

UNIVERSITE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE  
DU MALI

Année 1982

N° 3

NOUVELLES CONTRIBUTION A L'ETUDE  
BACTERIOLOGIQUE DE LA TUBERCULOSE  
PULMONAIRE AU MALI

THESE

présentée et soutenue publiquement le 23 Mars 1982  
devant l'École Nationale de Médecine et de Pharmacie  
Par:

M. Mankaila Djibrilla MAIGA

pour obtenir le grade de DOCTEUR en PHARMACIE  
(DIPLOME D'ETAT)

EXAMINATEURS:

- PRÉSIDENT: Professeur Oumar SYLLA
- MEMBRES { Professeur Mamadou KOUMARE  
 Professeur Souleymane SANGHÉ  
 Professeur Brehima KOUMARE

82-P-3

MO 3019 A

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI

ANNEE ACADEMIQUE 1981 - 1982

Directeur Général	: Professeur Aliou BA
Directeur Général Adjoint	: Professeur Bocar SALL
Secrétaire Général	: Monsieur Sory COULIBALY
Econome	: Monsieur Dioncounda SISSOKO
Conseiller Technique	: Professeur Agrégé Philippe BANQUE

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur Sadio SYLLA	: Anatomie
- Francis MIRANDA	: Biochimie
- Michel ULLICI	: Immunologie
- Humbert GIONO BARBER	: Pharmacodynamie
- Jacques JOSSELIN	: Biochimie
- Jean-Paul MARTINEAUD	: Physiologie
- Michel POUSSSET	: Matière médicale
Docteur BERNARD LANDRIEU	: Biochimie
- Gérard TOURAME	: Psychiatrie
- Jean DELMONT	: Santé Publique
- Boubacar	: Toxicologie-Hydrologie
Madame Paula GIONO-BARBER	: Anatomie-Physiologie Humaines
- Thérèse FARES	: Anatomie-Physiologie Humaines.

PROFESSEURS TITULAIRES RESIDANT A BAMAKO

Professeur Aliou BA	: Ophtalmologie
- Bocar SALL	: Anatomie-orthopédie-Traumatologie
- Mamadou DEMBELE	: Chirurgie générale
- Mohamed TOURE	: Pédiatrie
- Soubeimane SANGARE	: Pneumo-Phthisiologie
- Mamadou KOUMARE	: Pharmacologie-Matière médicale
- Mamadou Lamine TRAORE	: Obstétrique-Médecine légale
- Aly GUIINDO	: Gastro-Entérologie
- Abdoulaye AG-RHALY	: Médecine Interne
- Sidi Yaya SIMAGA	: Santé publique
- Siné BAYO	: Histologie-Embryologie-Anatomie path.
- Abdel Karim KOUMARE	: Anatomie-Chirurgie générale
- Bréhima KOUMARE	: Bactériologie
- Mamadou KoréIssi TOURE	: Cardiologie
- Philippe BANQUE	: Parasitologie
- Bernard DUFLO	: Pathologie médicale-Thérapeut.-Hémato.
- Robert COLOMAR	: Gynécologie-Obstétrique
- Oumar COULIBALY	: Chimie organique
- Adama SISSOKO	: Zoologie
- Bouba DIARRA	: Microbiologie
- Salikou SANOGO	: Physique
- Niamanto	: Mathématiques

ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur	Abderhamane Sidèye MAIGA	: Parasitologie
-	Sory KEITA	: Microbiologie
-	Yaya FOFANA	: Hématologie
-	Sory Ibrahima KABA	: Santé publique
-	Moctar DIOP	: Sémiologie chirurgicale
-	Balla COULIBALY	: Pédiatrie-Médecine du Travail
-	Bénitiéni FOFANA	: Obstétrique
-	Boubacar CISSE	: Dermatologie
-	Souleymane DIA	: Pharmacie chimique
-	Yacouba COULIBALY	: Stomatologie
-	Sanoussi KONATE	: Santé Publique
-	Issa TRAORE	: Radiologie-Physique
-	Mme SY (Assitan) SOW	: Gynécologie

CHARGES DE COURS

Docteur	Gérard GAUCHOT	: Microbiologie
-	Gérard TRUSCHEL	: Anatomie-Sémiologie chirurgicale
-	Boukassoum HAIDARA	: Galénique-Diététique
-	Philippe JONCHERES	: Urologie
-	Hamadi Mody DIALLO	: Galénique-Chimie analytique
-	Aliou KEITA	: Galénique
-	Saïbou MAIGA	: Galénique
Monsieur	Cheick Tidiani TANDIA	: Hygiène du milieu
Docteur	Abdoulaye DIALLO	: Gestion-Législation
Professeur	N'Golo DIARRA	: Botanique-Cryptogamie-Biologie végétale
(	Souleymane TRAORE	: Physiologie générale.

=====

JE DEDIE CE TRAVAIL

A MON PERE

A MA MERE

Pour leur dire que ce travail est d'abord le leur.

A MES ONCLES ET TANTES

A MES FRERES ET SOEURS

En témoignage de leur sympathie

A LA FAMILLE OUEDRAGO A GAO

A LA FAMILLE CISSE A BAGADADJI

Pour leur soutien pendant mes études.

A ABDOU MAIGA A LA MAIRIE DE GAO

Pour ses conseils de grand frère.

A MA FUTURE EPOUSE

En esperant qu'elle sera celle avec laquelle je trouverai la compréhension souhaitée pour l'édification d'un foyer exemplaire.

A TOUS MES COUSINS ET AMIS

Dr. Moussa MAIGA

Mr. Abderamane MAIGA

Mr. Alhousseyni MAIGA

Mr. Abdoul Wahab MAIGA

Mr. Moussa O. MAIGA

Mr. Ahmadou MAIGA

Dr. Ibrahim MAIGA

Pour leur bonne collaboration.

A TOUT LE PERSONNEL DU DISPENSAIRE ANTITUBERCULEUX DE BAMAKO

A A TOUT LE PERSONNEL DU SERVICE DE BACTERIOLOGIE DU LABORATOIRE DE L'IMPEDROIT

DE L'I.N.R.S.P.

Pour leur franche collaboration.

A MES AMIS DE PROMOTION ET EN PARTICULIER :

Abderhamane H. TOURE

Mohomed DICKO

Scydou TOURE

Pour leur bonne coopération au cours de nos études.

A MES AMIS DE GROUPE DE THESE.

Kalifa SANOGO et Bakary KONARE

Pour leur dire que maintenant plus que des amis, nous sommes  
des frères.

A MON VOISIN DE CHAMBRE

Ababacar MAIGA

A MES AMIES

Déidia BABY et Ami DIAKITE

Pour leur témoigner ma reconnaissance et leur souhaiter tout le bien.

A TOUT LE PERSONNEL DE L'ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

en particulier SORY COULIBALY et ma Dactylographe.

Pour les remercier.

A TOUS LES ENSEIGNANTS QUI ont contribué à ma formation en guise de reconnaissance.



AU PROFESSEUR ALIOU BA, DOYEN DE L'ECOLE

Pour lui dire que plus que mon Directeur il a été mon père.  
Aussi peut-il compter sur mon attachement éternel.

A NOTRE PRESIDENT DE JURY PROFESSEUR OUMAR SYLLA

Nous ne pouvons rester insensibles à l'insigne honneur que vous nous faites en acceptant de présider cette thèse.

Nous avons eu l'occasion d'apprécier vos hautes qualités humaines et professionnelles à travers nos maîtres que vous avez eus comme étudiant d'une part et à travers les cours que vous nous avez dispensés d'autre part à l'École Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali.

Veillez accepter notre sincère reconnaissance.

A NOTRE MAITRE DE THESE

PROFESSEUR AGREGÉ BREHIMA KOUARE, DIRECTEUR GENERAL ADJOINT DE L'I.N.M.E.  
PROFESSEUR DE BACTERIOLOGIE A L'ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE  
BAMAKO

Il serait inutile de rappeler ici vos immenses qualités professionnelles  
et humaines parce qu'elles sont connues de tous.

Vous êtes de ces rares personnes qui ont compris qu'on apprend par  
transmettre et surtout qui savent comment transmettre cette connaissance.  
Soyez assuré de notre reconnaissance et de notre respectueux attachement.

AU PROFESSEUR MAMADOU KOUMARE, DIRECTEUR GENERAL DE L'OFFICE MALIEN DE PHARMACIE  
PROFESSEUR DE PHARMACOLOGIE ET DE MATIERE MEDICALE A L'ECOLE NATIONALE DE MEDE-  
CINE ET DE PHARMACIE DU MALI

C'est un grand honneur que vous nous faites, en acceptant, au  
détriment de vos multiples préoccupations de siéger parmi notre  
jury. Nous gardons aussi de vous le souvenir d'un responsable dont  
le souci majeur est la bonne formation du pharmacien malien de  
demain.

Soyez assuré de notre éternel attachement.

AU PROFESSEUR SOULEYMANE SANGARE, MEDECIN CHEF DU SERVICE DE PNEUMO-PHTISIOLOGIE  
DE L'HOPITAL DU POINT "G", PROFESSEUR A L'ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE  
PHARMACIE BAMAKO

---

C'est un grand honneur que vous nous faites de siéger parmi notre jury  
A travers nos confrères médecins nous avons apprécié votre qualité de  
grand enseignant.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

## S O M M A I R E

	Pages
I. Introduction.....	2
II. Rappel sur les bacilles tuberculeux.....	5
a. Définition-Généralités.....	5
b. Mode de transmission.....	5
c. Classification - Nomenclature.....	5
d. Caractères différentiel des mycobactéries tuberculeuses.....	6
e. Rappel des différentes Mycobactéries atypiques.....	7
III. Les différents médicaments antituberculeux.....	10
A. La hierarchie des drogues antituberculeuses.....	10
B. Différents schémas thérapeutiques.....	14
IV. Sujets étudiés et Méthodes.....	20
A. Sujets étudiés.....	20
B. Méthodes.....	23
1. Prélèvements et examens directs.....	23
2. Culture.....	24
3. Tests de sensibilité aux antibiotiques.....	26
4. Identification des mycobactéries tuberculeuses.....	31
V. Résultats.....	38
A. Culture.....	38
B. Identification.....	38
C. Tests de sensibilité.....	42
VI. Discussions.....	46
A. Culture.....	46
B. Identification.....	46
C. Tests de sensibilité aux antibiotiques.....	46
VII. Conclusion .....	50
VIII. Bibliographie.....	52

INTRODUCTION

## I N T R O D U C T I O N

Au Mali, pays en voie de développement, l'endemie tuberculeuse demeure encore une des principales priorités en Santé Publique.

La tuberculose pulmonaire a été classée au 5ème rang des Grandes Endemies par les statistiques du Ministère de la Santé Publique en 1972 (61) après le paludisme, la bilharziose, l'onchocercose et la lèpre. Aussi une enquête effectuée en 1968-1975 fixe l'index tuberculinique au tour de 50% à 20 ans et estime à 11 000 cas l'incidence annuelle de morbidité (55). Ces chiffres ne sont que le témoin des difficultés posées par l'insuffisance de l'infrastructure sanitaire, l'irrégularité du ravitaillement en médicaments, les problèmes du traitement ambulatoire, dans un pays au faible taux d'alphabétisation rendant difficile l'éducation sanitaire.

Actuellement nombreux sont les malades qui abandonnent leur traitement avant la fin pour une raison ou une autre. Chez ceux-ci les bacilles résistants épargnés par les médicaments se multiplient et prennent le dessus de la population .

La liste des médicaments vraiment actifs sur le bacille tuberculeux, étant limitée, tout doit être mis en oeuvre pour empêcher la sélection massive des mutants résistants. Ceci n'est possible que si le clinicien se fait aider par le laboratoire qui doit lui fournir non seulement les résultats d'un examen direct, mais aussi ceux de la culture et des tests de sensibilité aux antibiotiques. Le clinicien devrait aussi demander l'identification de l'espèce mycobactérienne en cause, toutes les mycobactéries n'ayant pas le même pouvoir pathogène.

C'est espérant apporter notre contribution à la résolution de ce problème que nous avons conçu ce travail qui doit nous donner une idée, non seulement des souches mycobactériennes tuberculeuses dans notre pays, mais aussi de l'état de sensibilité de ces souches aux différentes drogues antituberculeuses.

Le travail aura porté sur 299 crachats et un tubage gastrique contenant des bacilles acido-alcoolo-résistants, récoltés pour la plupart au laboratoire antituberculeux (D.A.T.) de Bamako et dans un petit nombre de cas au laboratoire de l'hippodrome de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P.) où nos travaux se sont déroulés.



Pour la conception du travail nous avons adopté le plan suivant :

- Rappel sur les bacilles tuberculeux ;
- Les différents médicaments antituberculeux ;
- Sujets étudiés et méthodes ;
- Résultats ;
- Discussions ;
- Conclusion ;
- Bibliographie.

RAPPEL SUR LES BACILLES TUBERCULEUX

## II. RAPPEL SUR LES BACILLES TUBERCULEUX

### a. Définition. Généralités :

Les bacilles tuberculeux sont des microorganismes qui se présentent sous la forme de batonnets droits ou légèrement incurvés. Ils sont parfois filamenteux mais sans ramification, ni conidies, asporulés, aciliés. Ils sont immobiles, difficilement colorables au gram qu'ils conservent et acido-alcool-résistants.

Les bacilles tuberculeux sont relativement résistants aux agressions chimiques et physiques et se différencient des autres germes par leurs exigences métaboliques. Ce sont des germes à croissance lente (20 heures) (54).

### b. Mode de transmission

Les bacilles tuberculeux sont responsables de la tuberculose qui est une maladie très contagieuse. La transmission se fait essentiellement par voie respiratoire, par les bacilles dispersés dans l'atmosphère par des malades atteints de tuberculose cavitaire, quand ils parlent, toussent ou chantent (42) dans l'ordre d'importance.

La voie orale est mineure dans la transmission et concerne les aliments souillés principalement le lait et la viande d'animaux tuberculeux. Dans ce cas, elle intervient surtout pour mycobactérium bovis.

### c. Classification. Nomenclature.

Les bacilles tuberculeux font partie de l'unique genre Mycobacterium, de la famille des Mycobactériaceae, ordre des Actinomycetales, classe des Schizomycètes.

On peut les répartir en trois espèces, qui sont souvent considérées comme des variétés de la même espèce.

1. Mycobacterium tuberculosis (Lehmann et Neuman, 1899) ou Mycobacterium tuberculosis, Var. hominis, bacille de Koch (B.K.), A.T.C.C. 27294 (H<sub>37</sub>R<sub>7</sub>) (42). C'est le type classique du bacille tuberculeux découvert par Robert KOCH en 1882.

2. Mycobacterium bovis (Karlson et Lessel, 1870) ou Mycobacterium tuberculosis Var. bovis, A.T.C.C. 10210. C'est le bacille tuberculeux bovin dont le pouvoir pathogène pour l'homme est égal à celui du précédent.

3. Mycobacterium africanum qui est un type intermédiaire entre les deux précédents, noté par SARRAT en 1968 et étudié la même année par CASTETS et al. (9). Cette espèce serait représentée par plusieurs variétés intermédiaires entre Mycobacterium tuberculosis et Mycobacterium bovis, 5 selon HEBT cité par de SOUZA (19).

A ces trois espèces il faudrait ajouter :

- le B.C.G. (bacille de Calmette et Guérin) qui est une souche atténuée de Mycobacterium bovis et qui peut être isolée d'adenopathies et d'abcès consécutifs à vaccination par le B.C.G. (42).

- les diverses souches de Mycobacterium tuberculosis, de Mycobacterium bovis et de Mycobacterium africanum résistantes surtout à l'isoniazide et dont les caractères diffèrent de ceux des souches normales (sauvages).

#### d. Caractères différentiels des Mycobactéries tuberculeuses.

Tableau I. Différents caractères de discrimination entre les mycobactéries tuberculeuses et le B.C.G.

Mycobactéries	Colonies	Catalase		Nitrate  Reductase	Niacine	T.C.H.
		22°C	37°C			
<u>M. tuberculosis</u>	! eugoniques	! +	! -	! +	! +	! +
	! rugueuses	!	!	!	!	!
<u>M. africanum</u>	! dysgoniques	! +	! -	! ±	! ±	! -
	! rugueuses	!	!	!	!	!
<u>M. bovis</u>	! dysgoniques	! +	! -	! -	! -	! -
	! lisses	!	!	!	!	!
B.C.G.	! eugoniques	! +	! -	! -	! -	! -
	! rugueuses	!	!	!	!	!

a. Rappel des différentes mycobactéries atypiques :

Nous rappelons ce groupe parce qu'il renferme des bacilles occasionnellement pathogènes pour l'homme. Ils ne peuvent être considérés comme responsables de l'infection que si on les isole plusieurs fois et en l'absence de toute mycobactérie tuberculeuse et de préférence dans une pièce d'excrète.

1. Mycobactéries atypiques responsables d'affections viscérales et ganglionnaires (classification de RUNYON) (6)

Groupe I. : Photochromogènes : ce groupe donne des colonies pigmentées après exposition à la lumière.

La principale espèce est Mycobacterium kansasii responsable d'affections pulmonaires et parfois ganglionnaires.

Groupe II : Scotochromogènes. Les colonies sont pigmentées même en l'absence de la lumière.

-- Mycobacterium scrofulaceum responsable d'adenites de l'enfant.

-- Mycobacterium aquae : pratiquement jamais pathogène, mais dont quelques cas d'atteinte pulmonaire ont été signalés.

Groupe III : Non chromogène : les colonies sont non pigmentées.

-- Mycobacterium avium : bacille tuberculeux aviaire.

-- Mycobacterium intracellulare (ou batteyi).

Ces deux espèces voisines sont responsables d'affection pulmonaire, ganglionnaire et parfois osseuse.

-- Mycobacterium terrae : non pathogène.

-- Mycobacterium xenopei : responsable d'affection pulmonaire.

Groupe IV : Croissance rapide. La croissance à 37° est très rapide. Les colonies apparaissent entre le 4ème et le 7ème jours.

La principale espèce est Mycobacterium fortuitum (ou minetti) responsable d'abcès profonds et parfois d'affections ganglionnaires.

2. Mycobactéries responsables d'ulcérations cutanées.

Ces bacilles cultivent à 20 -- 30°C.

- Mycobacterium marinum, photochromogène à croissance rapide, saprophyte des eaux responsables dans les pays tempérés d'ulcérations cutanées superficielles contractées après baignade en piscine souillées.

- Mycobacterium ulcérans : Sotochromogène ou non chromogène à croissance lente, responsable d'ulcération cutanée profonde dans les pays tropicaux.

LES DIFFERENTS MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX

### III. LES DIFFERENTS MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX

#### A. LA HIERARCHIE DES DROGUES ANTITUBERCULEUSES (GROSSET) (25)

La hiérarchie est établie en tenant compte aussi bien des phénomènes de résistance du bacille tuberculeux à ces drogues, que des propriétés pharmacocinétiques de celles-ci. Accessoirement peuvent intervenir des critères de sécurité et de confort.

##### 1. L'efficacité des antibiotiques antituberculeux.

Cette efficacité est liée à trois facteurs :

- L'intensité de l'activité antibactérienne : qui est d'autant plus forte que l'antibiotique est présent dans le sang à une concentration plus forte et que le bacille est sensible à une concentration plus faible. Cette intensité est appréciée par le coefficient de dépassement moyen (C.D.M.) qui est le rapport :

$$\frac{\text{Concentration sérique moyenne}}{\text{Concentration minimale inhibitrice.}}$$

Si le C.D.M. est élevé le bacille sera soumis à un effet antibactérien puissant (bactéricidie), et lorsqu'il est bas à un effet faible (bactériostase).

La concentration minimale inhibitrice (C.M.I.) est définie par la concentration minimale nécessaire pour inhiber la croissance d'une souche normale de bacille tuberculeux.

- Le facteur de pénétration de l'antibiotique jusqu'au siège des bacilles. Il conditionne l'activité de l'antibiotique respectivement sur les bacilles extracellulaires (dans le osseum) et sur les bacilles intracellulaires (dans les macrophages).

- Le 3ème facteur d'efficacité est représenté par la proportion de mutants résistants aux antibiotiques existant dans les souches normales de bacilles tuberculeux avant le début du traitement. Ainsi l'efficacité d'un antibiotique est inversement proportionnelle à la fréquence des mutants.



Tableau I : Facteurs d'efficacité des antibiotiques

Antibiotiques	3ème heure	C.D.M.		Activité		% des mutants résistants
		16ème heure		extra- cellulaire	intra- cellulaire	
Rifampicine 600mg	100	50		+	+	$10^{-8}$
Isoniazide 300mg						
-- inactivateur lent	90	50		+	+	$10^{-6}$
-- inactivateur rapide	50	8				
Streptomycine 1g	30			+	0	$10^{-5}$ - $10^{-6}$
Kanamycine 1g	30			+	0	$10^{-5}$ - $10^{-6}$
Viomycine 1g	4			+	0	$10^{-3}$
Capréomycine 1g	5 à 10			+	0	$10^{-3}$
Pyrazinamide 2g	5 à 10			0	+	$10^{-3}$
Ethionamide 0,750g	5			+	+	$10^{-3}$
Ethambutol 1,5g	3 à 4			+	+	$10^{-6}$
Cyclosérine 1g	3 à 4			+	+	$10^{-3}$
P.A.S. (12g)	100	5		+	0	$3,6 \cdot 10^{-5}$
MB <sub>1</sub> 0,150g	10	10		+	0	$5 \cdot 10^{-3}$

Les chiffres en (g) devant les médicaments correspondent à la dose quotidienne.

## 2. La sécurité et le confort des antibiotiques.

• La sécurité d'un médicament dépend de sa toxicité aux doses thérapeutiques courantes et du risque que fait courir un surdosage accidentel.

D'une manière générale plus le rapport entre dose toxique et dose thérapeutique est élevé, plus le médicament est sûr.

• Le confort (ou acceptabilité) d'un médicament dépend de sa bonne tolérance et surtout de la facilité de son maniement aux doses habituelles.

Tableau II : sécurité et confort des antibiotiques aux doses thérapeutiques habituelles.

Antibiotiques	Doses quotidiennes (g)		Dose toxique dose thérapeutique	confort
	chez un sujet de : 50kg	≥50kg		
Rifampicine	0,450	0,600	3 à 4	1
Isoniazide	0,300	0,450		
Ethambutol	1,200	1,500	1 à 2	1
Pyrazinamide	1,500	2		
Ethionamide	0,500	0,750	1 à 2	2
Cycloserine	0,750	1		
P.A.S.	10	12	environ 1	2
TB <sub>1</sub>	0,150	0,150		
Streptomycine	0,750	1		
Kanamycine	0,750	1	environ 1	3
Viomycine	0,750	1		
Capréomycine	0,750	1		

En confrontant ces divers critères les antituberculeux ont été classés en 3 groupes.

Tableau III : Hierarchie des antituberculeux :

MAJEURS	! Rifampicine, Isoniazide (I.N.H.)
SECONDAIRES	! Streptomycine, Ethionamide, Ethambutol, Prothionamide
Mineurs	! Pyrazinamide, Kanamycine, Cycloserine, Viomycine, ! Capréomycine, P.A.S., Thiacetazone (TB <sub>1</sub> )

## B. DIFFERENTS SCHEMAS THERAPEUTIQUES

Le traitement classique comporte 2 phases

- d'abord un traitement d'attaque où on associe 3 tuberculostatiques comportant les 2 majeurs et un choix entre la streptomycine et l'éthambutol. Ce traitement dure 3 mois, le temps de stériliser les crachats pour que le malade ne soit plus contagieux pour son entourage.

L'utilisation de la Rifampicine tous les jours pendant 3 mois coûtant chère, on utilise plutôt au Mali l'association I.N.H. - Streptomycine - TB<sub>1</sub> (51).

- deuxièmement un traitement allégé de 9 - 15 mois comportant 2 tuberculostatiques majeurs. Au Mali on utilise plutôt l'association I.N.H. - Streptomycine (51), un majeur et un moyen pour les mêmes raisons économiques.

Ce schéma est long et généralement tous les malades ne le suivent pas jusqu'au bout ce qui justifie des recherches en vue de l'application de schémas thérapeutiques de courte durée, dont l'objectif est de réaliser des associations de drogues qui ont un pouvoir stérilisant rapide (25) (négativisation des expectorations en deux mois).

L'efficacité de ces régimes est appréciée par le taux de rechutes bactériologiques après l'arrêt du traitement. En général plus la durée du régime est courte, plus le taux de rechute augmente.

Nous donnerons quelques exemples de ces régimes courts :

### 1. Régime de 9 mois hautement efficace.

Schema 1 :

1ère phase : 2 mois		2ème phase : 7 mois	
I.N.H.	7/7 jours	I.N.H.	7/7 jours
Rifampicine	"	Rifampicine	"
Ethambutol	"		

Ce schéma a été essayé sur 51 malades. Après les 9 mois de traitement les malades ont été régulièrement suivis pendant 45 mois et aucune rechute bactériologique n'a été enregistrée. Les recherches ont été menées par le British Thoracic Association (B.T.A.) (1976) (23).

2. Régimes de 6 mois hautement efficacesSchema 2

1ère phase : 2 mois	2ème Phase : 4 mois
Streptomycine I.N.H. Rifampicine 7/7jours Pyrazinamide	I.N.H. Rifampicine 7/7jours Pyrazinamide

Schema 3

1ère phase : 2 mois	2ème phase : 4 mois
Streptomycine I.N.H. Rifampicine 7/7jours Pyrazinamide	I.N.H. 7/7jours Rifampicine

Schema 4

1ère phase : 2 mois	2ème phase : 4 mois
Streptomycine I.N.H. Rifampicine 7/7jours Pyrazinamide	I.N.H. Rifampicine 2/7jours

Schema 5


---

 Une seule phase de 6 mois
 

---

 Streptomycine + I.N.H. + Rifampicine + Pyrazinamide 2/7jrs
 

---

Les premières recherches ont été menées par la British Thoracic Association (1980) et en France (1977). Les régimes comportent en commun Isoniazide, Rifampicine, Pyrazinamide dans la première phase et Isoniazide et Rifampicine dans la phase de continuation (23). Les recherches ont montré que ces régimes avaient la même efficacité que les régimes de 9 mois. Sur un ensemble de 422 malades seulement 4(1%) ont fait une rechute bactériologique.

3. Régimes de 4 $\frac{1}{2}$  - 5 moisSchema 6

1ère phase : 3 mois	2ème phase : 19 semaines
Streptomycine I.N.H. Rifampicine 7/7 Jours Pyrazinamide	I.N.H. Rifampicine 7/7 jours

Schema 7

1ère phase : 3 mois	19 semaines
Streptomycine I.N.H. Rifampicine 7/7 jours Pyrazinamide	Streptomycine I.N.H. Pyrazinamide 2/7 jours

Ces régimes sont moins efficaces que ceux de 9 mois ou 6 mois (23). Les essais ont été menés sur 465 malades parmi lesquels 17(3%) ont été victimes de rechutes bactériologiques.

4. Régimes de 4 moisSchema 8

1ère phase : 2 mois	2ème phase : 2 mois
Streptomycine I.N.H. Rifampicine 7/7 jours Pyrazinamide	Rifampicine I.N.H. 7/7 jours Pyrazinamide

Schema 9

1ère phase : 2 mois	2ème phase : 2 mois
Streptomycine I.N.H. Rifampicine 7/7 jours Pyrazinamide	Rifampicine I.N.H. 7/7 jours

Les taux de rechutes bactériologiques pendant une période d'observation de 26 mois étudiés à Singapour et en Afrique orientale, sont nettement plus élevés que ceux des régimes de 4 $\frac{1}{2}$  - 5 mois. Il a été obtenu un taux de rechutes de 12% sur 364 malades (23).

5. Régimes de 3 moisSchema 10

1 seule phase de 3 mois
Streptomycine + I.N.H. + Rifampicine 7/7 jours

Schema 11

1 seule phase de 3 mois
Streptomycine 7/7 jours
I.N.H. 3/7 jours
Rifampicine 3/7 jours

Schema 12

---

1 seule phase de 3 mois

---

Streptomycine + I.N.H. + Rifampicine + Pyrazinamide 7/7jrs

---

Les résultats obtenus ont montré (23) un taux de rechutes bactériologiques de 13% sur 307 malades.



## SUJETS ETUDIÉS ET METHODES

#### IV. SUJETS ETUDIÉS ET METHODES

A. SUJETS ETUDIÉS : Notre travail a porté sur 300 échantillons dont 299 crachats et un tubage gastrique.

Tableau 1 : Repartition des malades selon l'âge.

Tranche d'âge	!	Nombre	!	%
10 ans 1/2 - 20 ans	!	12	!	4
21 - 30 ans	!	77	!	26
31 - 40 ans	!	52	!	17
41 - 50 ans	!	44	!	15
51 - 60 ans	!	28	!	9
Plus de 60 ans	!	9	!	3
indéterminés	!	78	!	26
Total	!	300	!	100

Le tableau donne une fréquence plus élevée dans la tranche d'âge 21-30 ans.

Tableau II : Repartition des malades selon le sexe

SEXE	!	Nombre	!	%
Masculin	!	235	!	78,34
Féminin	!	65	!	21,66
Total	!	300	!	100

Le tableau montre que la tuberculose est plus fréquente chez les hommes.

Tableau III : Repartition des malades selon la profession

Profession	!	Nombre	!	%
Cultivateurs	!	63	!	21
Menagères	!	54	!	18
Commerçants	!	24	!	8
Elèves	!	11	!	3,66
Chauffeurs	!	10	!	3,34
Eleveurs	!	6	!	2
Fonctionnaires	!	11	!	3,66
Militaires	!	4	!	1,34
Marabouts	!	3	!	1
Etudiants	!	2	!	0,66
Pêcheurs	!	1	!	0,34
Artisans	!	22	!	7,34
Indéterminés	!	71	!	23,66
Total	!	300	!	100

Selon le tableau la tuberculose touche surtout les cultivateurs suivis des ménagères.

Tableau IV : Repartition des malades selon la provenance.

Région	!	Nombre	!	%
Kayes	!	9	!	3
Koulikoro	!	11	!	3,66
Sikasso	!	6	!	2
Ségou	!	7	!	2,34
Mopti	!	2	!	0,66
Tombouctou	!	4	!	1,34
Gao	!	2	!	0,66
Bamako	!	259	!	86,34
Total	!	300	!	100

Le tableau montre que la plupart des tuberculeux sont de Bamako. Mais toutes les régions sont représentées.

Tableau V : Repartition des malades selon l'ethnie

Ethnie	!	Nombre	!	%
Bambara	!	76	!	25,34
Sonraï	!	20	!	6,66
Peulh	!	42	!	14
Sarakolé	!	27	!	9
Tamacheck	!	1	!	0,34
Kassonké	!	2	!	0,66
Malinké	!	24	!	8
Sénoufo	!	3	!	1
Mossi	!	2	!	0,66
Bozo	!	1	!	0,34
Minianka	!	3	!	1
Dogon	!	5	!	1,66
indéterminés	!	94	!	31,34
Total	!	300	!	100

Les Bambaras sont les plus touchés, mais cela est certainement dû <sup>A</sup> au fait que la population bamakoise est composée en majorité de Bambaras.

## B. MATERIELS ET METHODES

### 1. PRELEVEMENTS ET EXAMEN DIRECT

1.1. Prélèvements : Les malades se rendent chaque matin au laboratoire dès le réveil, où un crachoir métallique propre et flambé à l'alcool leur est présenté. Le crachoir portera le numéro du malade. Toutefois pour les malades ayant des difficultés à cracher sur place, un crachoir individuel en plastique leur est confié. Ce crachoir devrait être ramené le lendemain matin au laboratoire.

Une fois les prélèvements collectés, ils sont rapidement observés à l'oeil nu pour détecter ceux qui sont uniquement salivaires, ou formés de sécrétions rhino-pharyngées.

Ceux-ci sont éliminés. Les malades concernés sont reconvoqués ou munis de crachoirs plastiques. Si après trois échantillons on ne retrouve pas de prélèvement examinable, on répond au clinicien pour lui expliquer que son patient n'arrive pas à donner de crachats.

1.2. Examen direct : Il est effectué sur place au D.A.T. pour l'exécution du frottis nous disposons d'une anse de platine, d'une lampe à alcool, des lames nouvelles. Avant usage les lames sont nettoyées avec de l'alcool à 90° et essuyées avec une compresse propre.

Les lames sont ensuite numérotées, les numéros correspondant à ceux des crachoirs. Pour l'étalement, on se sert d'une anse de platine flambée et refroidie. On prélève le pus et à son absence le mucus qu'on étale sur les  $\frac{2}{3}$  de la longueur de la lame de façon à avoir un frottis ni trop épais, ni trop  $\frac{1}{3}$  mince. L'anse est stérilisée avant de passer au frottis suivant. Les frottis ainsi confectionnés sont séchés et fixés à l'alcool et à la flamme.

Méthode de coloration : La technique utilisée est celle de Ziehl-Neelsen. La coloration se fait selon la méthode à froid.

La lecture est faite au microscope ordinaire au grossissement 100 à l'immersion. On examine les frottis sur trois lignes parallèles suivant la longueur de la lame ce qui correspond à 300 champs microscopiques.

Ainsi sur les frottis positifs on observe les bacilles acido-alcoolo-résistants sous forme de fins bâtonnets rouges isolés ou en amas sur le fond bleu de la préparation.

Tableau I. : Mode d'expression des résultats. (42)

Nombre de bacilles <u>acido-alcoolo-résistants</u>	! Noter	! Repondre	! Concentration bacillaire/crachat
0/300 champs	! Négative	! --	! moins de 1 000
1 - 2/300 champs	! Nombre observé	! ±	! environ 5 000
1-10/100 champs	! Nombre/100 champs	! 1+	! à 10 000
1-10/10 champs	! Nombre/10 champs	! 2+	! environ 50 000
1-10/champ.	! Nombre/champ	! 3+	! environ 100 000
10 ou plus:/champ	! 10/champ	! 4+	! 500 000 ou plus

## 2. Culture

Les crachats étant contaminés par une flore associée nécessite un traitement préalable pour leur ensemencement sur les milieux de culture.

Pour la culture nous récoltons les crachats positifs à l'examen direct, dans des crachoirs plastiques que nous transportons au laboratoire de l'I.N.R.S.P.

Là ils sont ensemencés le même jour.

2.1. Homogénéisation : On appelle ainsi improprement le traitement du crachat. Elle nous permet une fluidification, l'élimination de la flore associée, et enfin une centrifugation concentrant les bacilles dans le culot qui sera ensemencé.

Méthode utilisée : C'est le procédé à la soude : méthode de PETROFF.

Technique : Les crachats sont placés directement dans les tubes à centrifuger (flacon à fond conique en verre pyrex avec fermeture à vis) stérilisés. On y ajout selon la viscosité du crachat, la quantité suffisante de soude en solution à 4% pour obtenir une bonne dissociation du crachat. Ceci s'obtient en agitant énergiquement. Après on porte les tubes à l'étuve à 37° pendant 15 minutes, puis on centrifuge à 3 000 tours par minute pendant 20 minutes. Ensuite on jette le surnageant dans un cristalliseur contenant du crésyl ou de l'eau de javel.

Le culot est neutralisé avec l'acide chlorhydrique dilué en nous aidant du papier pH. La totalité du culot de centrifugation est ensemencé dans deux tubes de milieu de culture (1 tube de Lowenstein-Jensen et 1 tube de Lowenstein-Jensen + pyruvate)

Inconvénients de la méthode : C'est une méthode classique. Elle est nocive pour les bacilles car tue une proportion importante d'entre eux.

Ainsi avec la formation d'un excès de chlorure de sodium, lors de la neutralisation les bacilles pourront être inhibés en culture. En effet le chlorure de sodium est nocif pour la vitalité du bacille tuberculeux (54). On doit alors utiliser le minimum d'acide pour la neutralisation du culot.

## 2.2. Milieux de culture

Le milieu utilisé est celui de Lowenstein-Jensen seul ou enrichi de pyruvate (pour la culture des mycobactéries à croissance difficile telles Mycobacterium africanum et Mycobacterium bovis).

• Fabrication du milieu : Nous l'exécutons nous-mêmes au laboratoire à partir de la poudre déshydratée de base fournie par l'Institut Pasteur ou Difco.

### Composition de la poudre :

Fecule de pomme de terre .....	30g
Phosphate monopotassique.....	2,40g
Citrate de magnésie.....	0,60g
Sulfate de magnésie.....	0,24g
Lacto-asparagine.....	3,60g
Vert malachite.....	0,40g

### Technique de la fabrication :

Dissoudre 37,3g de milieu sec dans 600 ml d'eau distillée auxquels on aura ajouté 12ml de glycérine. Faire chauffer en agitant constamment et porter à l'ébullition pendant une à deux minutes. Autoclaver à 120°C pendant 15 minutes. Laisser refroidir aux environs de 50°C. Pendant ce temps, casser aseptiquement une quantité d'œufs suffisante pour obtenir un litre de jaunes et blancs. Bien mélanger en évitant la formation de bulles d'air. Incorporer lentement les œufs au milieu, de manière à avoir un mélange homogène. Repartir dans des tubes stériles, munis de capuchons à vis. Mettre les tubes en position inclinée et les laisser coaguler à 85°C pendant 45 minutes. Les tubes hermétiquement bouchés seront conservés au réfrigérateur.

Pour l'ensemencement, on utilise pour chaque échantillon un tube de Lowenstein-Jensen et un autre tube imprégné de Pyruvate.

On les incube à l'étuve les capuchons non serrés pour avoir l'évaporation de la partie liquide de la semence. Après le délai nécessaire, les tubes sont bien capuchonnés et laissés à l'étuve.

Le 5ème puis le 7ème jour on les examine et après l'examen se fait chaque semaine

### 3. LE TEST DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

Nous avons opéré suivant la méthode des proportions décrite par CANETTI, RIST et GROSSET (7,8).

3.1. Principe : Cette méthode consiste à déterminer la proportion de bacilles résistants contenus dans la souche à étudier.

La condition recherchée est que les colonies obtenues soient faciles à compter mais en nombre suffisant pour un bon calcul des pourcentages.

La mesure se fait sur le milieu de Lowenstein-Jensen contenant l'antibiotique inclus dans la masse avant la coagulation.

En pratique on utilise deux dilutions bacillaires l'une cent fois plus faible que l'autre, choisies de telle sorte que l'une ou l'autre donne naissance à des colonies en nombre comptable. En confrontant le nombre de colonies obtenu sur les milieux avec antibiotiques (bacilles résistants) avec le nombre de colonies obtenu sur les milieux sans antibiotique (bacilles sensibles et résistants réunis), on obtient facilement la proportion de bacilles résistants qui existent dans la souche testée.

En deçà d'une certaine proportion, dite proportion critique, la souche est classée comme sensible, au delà, elle sera taxée résistante.



### 3.2. Techniques :

Nous avons emprunté la technique de l'antibiogramme indirect.

Cette méthode consiste à ensemencer, par repiquage; les germes d'une première culture. On prélève avec une anse de platine le plus grand nombre possible de colonies sur le milieu (environ 5-10mg).

La semence prélevée est déposée dans un ballon stérile contenant trente billes de verre de 4mm et 0,5ml d'eau distillée stérile.

Le ballon est agité quelques minutes. Après nous transférons la suspension dans un tube à essai stérile. On ajoute peu à peu de l'eau distillée stérile au tube pour ajuster l'opacité de la suspension bacillaire à un étalon de suspension de B.C.G. à 1mg/ml contenu dans un tube similaire. Cet étalon est gardé à la température de + 4°C et placé à la température du laboratoire au moins 15 minutes avant usage.

La suspension ainsi obtenue constitue la dilution mère. C'est à partir d'elle que se fera les différentes dilutions à ensemencer sur la gamme d'antibiotiques.

### 3.3. Préparation des dilutions bacillaires

Les dilutions à partir de la solution mère sont procédées de façon décimale jusqu'à  $10^{-3}$  en changeant de pipette à chaque dilution. Pour cela on dispose de 3 tubes à essai où on porte 4,5ml d'eau distillée stérile. 0,5ml de la solution mère est porté dans le premier tube et on obtient ainsi la dilution  $10^{-1}$ . Après avoir bien agité ce tube, on prélève 0,5ml qu'on transfère dans le deuxième tube, on a ainsi la dilution  $10^{-2}$ . Après agitation de la même manière on prélève 0,5ml qu'on transfère dans le troisième tube qu'on agite à son tour, on a alors la dilution  $10^{-3}$ .

### 3.4. La gamme d'antibiotiques testés

Nous avons régulièrement testé quatre antibacillaires : l'I.N.H., la Streptomycine la Rifampicine et le P.A.S. Nous étions obligés d'abandonner le cinquième, l'éthambutol pour des difficultés d'ordre technique.

Les antibiotiques en poudre contenus dans des flacons bien fermés et gardés à +4°C Ils sont sortis 15 minutes avant d'ouvrir les flacons lors de la pesée.

La pesée a été faite avec une balance graduée jusqu'au dixième de mg. Pour la pesée on utilise des petits tubes ou du papier stérile et la tare a été chaque fois effectuée. Pour la dissolution nous avons utilisé l'eau distillée stérile pour la streptomycine et le N.N. diméthyl-formamide pour les autres médicaments. Cette solution est ajoutée au milieu de Lowenstein-Jensen avant la coagulation. Le mélange est assuré par l'agitateur magnétique. La quantité à ajouter et calculée de façon à avoir la concentration recherchée.

Tableau II : Gamme d'antibiotiques testés avec les concentrations testées appelées aussi concentrations critiques : en microgrammes par millilitre de milieu.

Antibiotiques	Concentrations critiques
I.N.H.	0,2mcg/ml ( ? )
Streptomycine	4mcg/ml
P.A.S.	0,50mcg/ml
Rifampicine	40mcg/ml
Ethambutol	2mcg/ml

### 3.5. Lecture des résultats

Pour chaque échantillon nous ensemençons les dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-3}$ . Pour chaque dilution, nous utilisons deux tubes témoins, dont un tube de Lowenstein-Jensen simple et un deuxième tube enrichi en pyruvate de sodium, et un tube par antibiotique. 0,2ml de chaque dilution est ensemencé par tube. Les tubes légèrement capuchonnés sont incubés à l'étuve, le temps de permettre l'évaporation de la partie liquide de la semence.

Après ce temps les bouchons bien serrés et les tubes sont laissés à l'étuve jusqu'au 28ème jour, date de la lecture.

Toutefois en cas de culture dysgonique la lecture définitive est faite au 42ème jour. Les colonies poussées sont dénombrées. Les tubes témoins renseignent sur le nombre total de colonies. Les tubes avec antibiotique donneront le nombre de colonies résistantes à la concentration donnée. Le rapport du deuxième au premier donnera le pourcentage recherché.

### 3.6. Interprétation des résultats - Critères de résistance.

#### 3.6.1. Calcul de la proportion de bacilles résistants

Nous allons illustrer ce calcul par deux exemples :

• Exemple I. : Supposons qu'un test indirect l'isoniazide donne les colonies suivantes :

Dilutions	! Tubes témoins !		Tubes I.N.H.
	!	!	0,2mcg/ml
$10^{-1}$	!	!	00
$10^{-3}$	!	!	4

• ~~00~~ = incomptable

Le nombre total de bacilles viables contenus dans 0,2ml de la dilution  $10^{-3}$  est indiqué par le nombre de colonies trouvé sur chaque tube témoin ensemencé avec cette dilution. En prenant la moyenne des deux tubes, on trouve :

$$\frac{30 + 36}{2} = 33 \text{ colonies}$$

On suppose donc que chaque tube (tubes témoins et tubes avec antibiotiques) a reçu 33 bacilles viables. Sur ces 33 bacilles reçus on a sur le tube à 0,2mcg/ml

$\frac{4}{33}$  ~~12%~~ des bacilles de la souche qui se sont montrés résistants.

• Exemple 2. Un test indirect a fourni pour la streptomycine le nombre de colonies suivant :

Dilution	! tubes témoins	! tubes à streptomycine 4mcg/ml
$10^{-1}$	! +@ + @	! 8
$10^{-3}$	! 18 26	! 0

Le nombre de bacilles viables contenus dans 0,2ml de la dilution  $10^{-3}$  est

$$\frac{18 + 26}{2} = 22$$

Le tube avec streptomycine a reçu la même semence. Sur les 22 bacilles viables que le tube à streptomycine a reçus aucun n'a poussé.

Autrement dit aucun bacille n'a poussé sur le tube. Par contre sur le tube ensemencé avec la dilution  $10^{-1}$  on a 8 colonies. Il faut calculer d'abord le nombre de bacilles viables que chaque tube ensemencé avec la dilution  $10^{-1}$  a reçus. Sur chaque tube témoin ensemencé avec  $10^{-3}$  on a 22 bacilles. Donc chaque tube ensemencé avec la dilution  $10^{-1}$  a reçu  $22 \times 100 = 2\ 200$  bacilles viables.

Sur les 2 200 bacilles seulement 8 ont donné des colonies sur le tube à streptomycine.

La souche contient donc 8

$\frac{8}{2\ 200} \neq 0,4\%$  de bacilles résistants à 4mcg/ml de streptomycine.

### 3.6.2. Confrontation avec les proportions critiques adoptées pour l'antibiotique correspondant : critères de résistance.

Ces critères ont été retenus suivant des résultats biologiques et cliniques.

Pour chaque drogue il a été arrêté une concentration, considérée comme la plus importante, appelée aussi concentration critique, pour l'étude de la résistance. Dans les laboratoires à moyens limités comme le notre, seule cette concentration est testée. Ce sont ces concentrations que nous avons notées plus haut.

A cette concentration correspond une proportion critique. Nous avons déjà signalé que cette proportion critique est définie de telle sorte qu'au deçà la souche est considérée comme sensible et au delà, elle est résistante.

Tableau III : Concentrations et proportions critiques des antibacillaires.

Antibiotiques	Concentration critique (mcg/ml)	Proportion critique
Isoniazide (I.N.H.)	0,2	1%
Streptomycine	4	1%
P.A.S.	0,5	1%
Rifampicine	40	1%
Ethambutol	2	1%

Conformément aux proportions critiques indiquées dans ce tableau, la souche de l'exemple I précédent est résistante à l'I.N.H., alors que celle de l'exemple II est sensible à la streptomycine.

En effet dans l'exemple I 12% des bacilles sont résistants à 0,2mcg/ml, alors que la proportion critique pour cette concentration est de 1%.

Dans l'exemple II, seulement 0,4% des bacilles de la souche sont résistants à la streptomycine à raison de 4mcg/ml de milieu, ce qui est inférieur à la proportion critique de cette concentration qui est de 1%.

#### 4. IDENTIFICATIONS DES MYCOBACTERIES TUBERCULEUSES

L'identification a été basée sur l'étude des caractères cultureux, des propriétés biochimiques et de la sensibilité au T.C.H. (Hydrazide de l'acide ~~Thio~~phène -- 2 -- carboxylique).

##### 4.1. Caractères cultureux.

4.1.1. La température de croissance : Comme toutes les mycobactéries tuberculeuses poussent à la température de 37°C, celle à laquelle nos cultures ont été incubées.

#### 4.1.2. Délai d'apparition des colonies

Les colonies de Mycobacterium tuberculosis apparaissent sur Lowenstein-Jensen entre 2 et 4 semaines et sont dites engoniques.

Celles de Mycobacterium africanum poussent à partir de la 4ème semaine alors que celles de Mycobacterium bovis se voient après 3 à 9 mois (10). Ces deux derniers sont dits dysgoniques.

#### 4.1.3. Aspects macroscopiques des colonies

- Les colonies de Mycobacterium tuberculosis sont d'une couleur crème beige. Elles sont à peine fixées sur le milieu (40). Elles sont rugueuses, se délitant mal dans l'eau. Les vieilles colonies présentent un aspect typique en "choux-fleurs".

- Les colonies de Mycobacterium africanum sont très petites, plates, parfois surmontées d'un petit bourgeon central (10). Elles sont rugueuses.

Un caractère très particulier de M. africanum est l'enfoncement des colonies dans le milieu de culture qui est net vers la 6ème semaine. Ceci pourrait s'expliquer par les exigences métaboliques différentes de celles de M. tuberculosis (40). Les bords des colonies sont irréguliers.

- Les colonies de Mycobacterium bovis sont lisses, se délitant bien dans l'eau et d'aspect humide. Elles sont bombées, luisantes à contour régulier (10). Les colonies sont blanchâtres.

#### 4.1.4. Caractères particuliers :

Les colonies de M. africanum sont fortement stimulées par le pyruvate de sodium ajouté au milieu de Lowenstein-Jensen.

M. Tuberculosis est indifférent au pyruvate. Par contre M. Tuberculosis exige la glycérine pour sa croissance alors que M. africanum semble indifférent (19)

Pour M. bovis, les milieux doivent être préparés sans glycérine, ce dernier pouvant être un antimétabolite. Mais pour des difficultés d'ordre technique nous n'avons pas pu préparer ces milieux.

#### 4.1.5. Remarques :

L'étude des caractères se fait sur le milieu sans pyruvate, ce dernier modifiant la morphologie des cultures.

Ces caractères décrits correspondent en général aux souches normales. En effet les souches de M.tuberculosis isoniazido-résistantes deviennent dysgoniques. Aussi les colonies de M.tuberculosis et de M.africanum résistantes à cette drogue peuvent prendre un aspect lisse humide.

#### 4.2. Propriétés biochimiques

##### 4.2.1. Recherche de l'acide nicotinique (Niacine) (Niacin-Test de Konno)

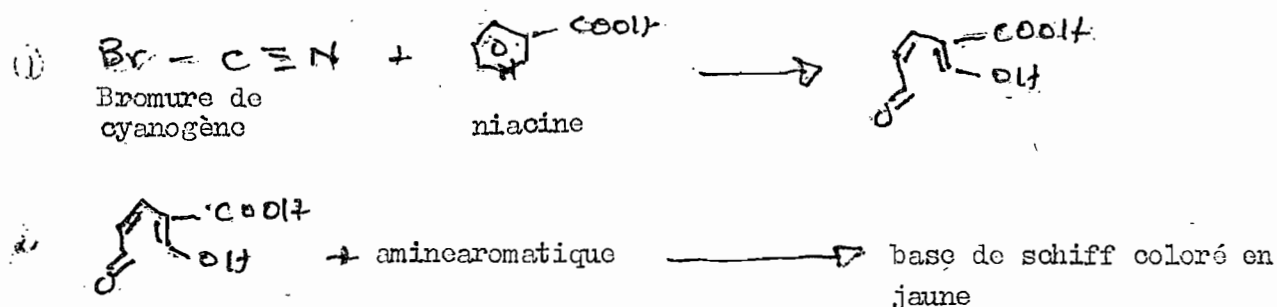
A la suite des travaux de Pope, Konno et Mareck (64) ont montré que les souches humaines produisent une assez grande quantité de Niacine alors que les souches bovines sont dépourvues de cette propriété.

• Technique : Pour l'extraction (64) on utilise l'eau distillée, 1ml déposé dans le tube qu'on incline. 20mn suffisent. Le test se fait sur des cultures vieilles d'au moins un mois sur Lowenstein-Jensen. On récupère l'eau dans un tube à hémolyse.

• Réaction : Nous avons des bandelettes réactives que nous plongeons dans le tube à hémolyse contenant le liquide recueilli. On attend jusqu'à 15mn pour la lecture définitive.

Le test est positif avec l'apparition d'une coloration jaune dans la solution. Il est négatif en l'absence de cette coloration.

#### Schema de la mise en évidence de la Niacine



4.2.2. Recherche de la catalase : Elle se fait sur une culture jeune et abondante

• Réactifs :

- eau oxygenée ( $H_2O_2$ ) à 30 volumes
- solution de Tween 80 à 10% dans l'eau.

• Technique : La recherche se fait simultanément à 22°C (température du labo.) et à 70°C. On place une anse pleine de colonies dans deux tubes à hémolyse contenant 0,5ml d'eau distillée. On porte l'un des tubes au bain-marie à 70°C pendant 15mn. Après on refroidit à la température du laboratoire.

Dans les deux tubes on introduit 0,5ml d'un mélange à partie égale de tween 80 à 10% et d'eau oxygenée à 30 volumes (préparé juste avant l'emploi).

La lecture se fait en 5 mn par la mesure de la hauteur de mousse produite.

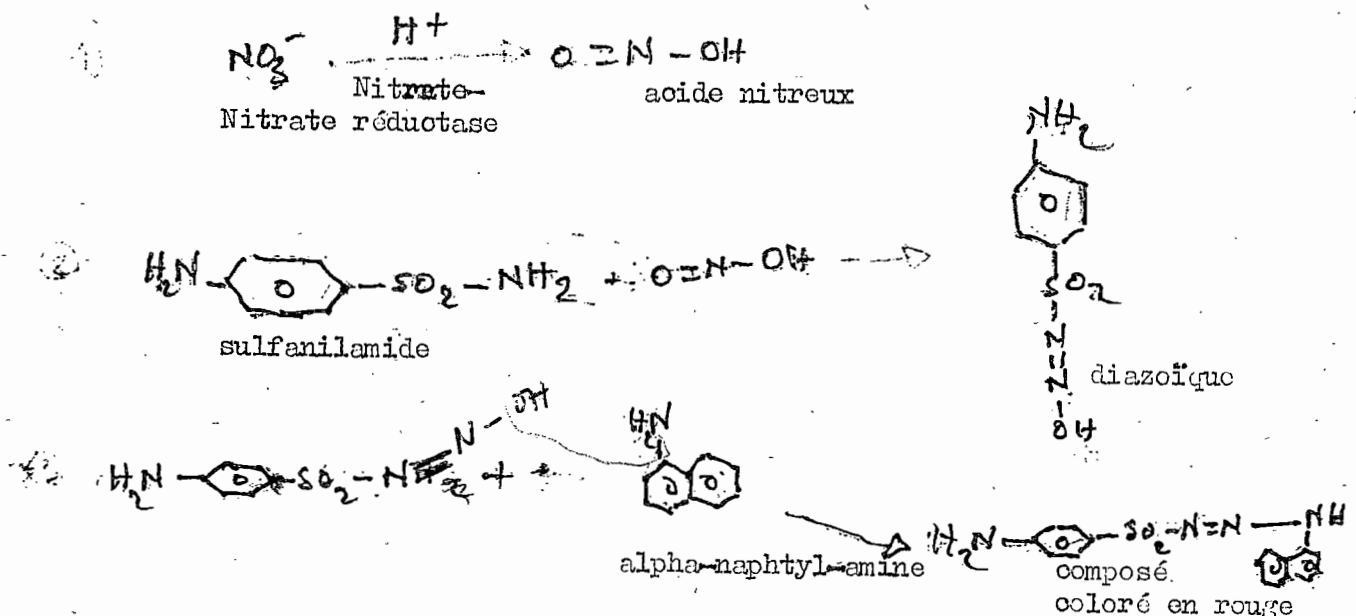
Si il n'y a pas production de mousse le test est négatif.

4.2.3. Réduction des nitrates : (Réaction de Virtanen-Boisvert)

Les bactéries produisant une nitrate-réductase réduisent les nitrates en nitrites ( $NO_3^- \rightarrow NO_2^-$ )

La formation des nitrites à partir des nitrates est révélée de la manière suivante. En présence d'acide chlorhydrique, le nitrite formé donne naissance à l'acide nitreux. Celui-ci réagit avec le sulfanilamide pour donner un composé diazoïque, qui forme en présence de  $\alpha$ -naphthyl-amine un nouveau composé coloré en rouge.

Schema





• Réactifs :

1. Solution stérile de nitrate de sodium

$\text{NO}_3\text{Na}$ ; ..... 0,085g  
eau distillée.....100ml

2. Solution de sulfanilamide :

Dissoudre 0,5g de substance dans 150ml de solution 2N d'acide acétique.

3. Solution d'alpha-naphtylamine :

Faire bouillir 0,3g avec 20ml d'eau et ajouter à la solution incolore 150ml de solution 2N d'acide acétique.

• Technique : La recherche se fait sur des colonies jeunes (moins de 1 mois).

Mettre 0,1ml d'eau distillée dans un tube à hémolyse y porter, une ansée de bacilles prélevés sur milieu de Lowenstein-Jensen. Ajouter 2ml de la solution de nitrate (n°1) et laisser incuber deux heures à l'étuve à 37°C. Ajouter alors 2 gouttes de solution de sulfanilamide (n°2) 2 gouttes de solution d'alpha-naphtylamine (n°3)

La lecture est immédiate.

Une coloration rouge de la solution témoigne un test positif. Si la solution reste incolore le test est négatif. Une coloration rose-pâle est le signe d'un test douteux.

Ainsi on opère chaque fois auprès d'un témoin négatif (formé uniquement des 3 réactifs sans bacilles ) et d'un témoin positif en mettant en plus des réactifs de la poudre de zinc qui réduit chimiquement les nitrates en nitrites.

4.3. Test de sensibilité au T.C.H.

Ce test s'effectue en même temps que le test de sensibilité aux antibiotiques. Le mode d'incorporation du produit au milieu reste le même. On prépare un milieu contenant 2mcg/ml. La lecture et l'interprétation des résultats sont également effectuées de la même manière. La proportion critique est de 1%.

Ainsi seules les souches normales de M.tuberculosis poussent sur le milieu imprégné. Mais ce test ne permet plus une discrimination entre les différentes souches en cas de résistance à l'I.N.H., entraînant une résistance croisée au T.C.H. (54)

Remarque : Chaque fois que le nombre de colonies poussant sur T.C.H. est notablement inférieur à celui du tube témoin, on doit être amené à rechercher une association d'espèces mycobactériennes.

R E S U L T A T S

V. RESULTATS

A. CULTURE : Sur les 300 échantillons ensemencés 241 ont donné une culture positive soit 80,33%, 16 ont été souillés et 43 n'ont pas poussé.

B. IDENTIFICATION

Sur les 241 cultures positives, 100 ont pu être testées d'une manière précise. Sur les 100, nous avons trouvé 65 Mycobacterium tuberculosis (65%); 32 Mycobacterium africanum (32%) et 3 Mycobactéries atypiques (3%)

Tableau I : Les différentes espèces isolées.

Espèces	Nombre	%
M. tuberculosis	65	65
M. africanum	32	32
M. atypiques	3	3
Total	100	100

Tableau II : Repartition des souches en fonction du sexe

SEXE	Total		M. tuberculosis		M. africanum		M. atypiques	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Masculin	72	72	45	62,5	24	33,33	3	4,2
Féminin	28	28	20	71,5	8	28,50	-	-
Total des souches	100	100	65	65	32	32	3	3

Dans un sexe comme dans l'autre le tableau montre qu'il y a plus d'infections à Mycobacterium tuberculosis qu'à Mycobacterium africanum.

Tableau. III : Repartition des souches en fonction de l'âge.

Age	Total		M. tuberculosis		M. africanum		M. atypiques	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
10 $\frac{1}{2}$ - 20 ans	5	5	4	6,15	0	0	1	1
21 - 30 ans	29	29	24	36,92	5	15,62	0	0
31 - 40 ans	17	17	10	15,38	6	18,75	1	1
41 - 50 ans	18	18	9	13,84	9	28,12	0	0
51 - 60 ans	9	9	5	7,69	4	12,50	0	0
Plus de 60 ans	4	4	1	1,54	3	9,38	0	0
indéterminés	18	18	12	18,48	5	15,63	1	1
Total	100	100	65	100	32	100	3	3

Ce tableau montre une fréquence plus élevée dans la tranche d'âge 21-30 ans, suivie par celles de 31-40 ans et de 41 - 50 ans.

Tableau IV : Repartition des souches en fonction des ethnies.

Ethnies	Total		M. tuberculosis		M. africanum		M. atypiques
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	
Bambara	42	42	26	40	14	43,75	2
Peulh	20	20	12	18,46	8	25	0
Sonraï	11	11	9	13,84	1	3,12	1
Malinké	7	7	6	9,23	1	3,12	0
Sarakolé	7	7	4	6,15	3	9,38	0
Sénoufo	5	5	3	4,61	2	6,25	0
Maure	3	3	1	1,53	2	6,25	0
Dogon	2	2	2	3,07	0	0	0
Kassonké	1	1	0	0	1	3,12	0
Bobo	1	1	1	1,54	0	0	0
Tamacheck	1	1	1	1,54	0	0	0
Total	100	100	65	100	32	100	3

Selon le tableau Mycobacterium tuberculosis apparait en plus grande fréquence chez les bambara suivis des peulh , sonraï puis les Malinké. En fait ces ethnies sont les plus représentées dans notre échantillon.

Par contre Mycobacterium africanum est présent surtout dans les ethnies bambara peulh, sarakolé, sénoufo et maure. Ces trois dernières ethnies étant parmi les moins représentées de l'échantillon.

Tableau V : Repartition des souches selon la provenance

Provenance	Total		M.tuberculosis		M.africanum		M.atypiques	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Kayes	8	8	5	62,5	3	37,5	0	0
Koulikoro	11	11	7	83,33	1	16,67	0	0
Sikasso	6	6	5	83,33	1	16,67	0	0
Ségou	7	7	4	57,14	3	42,86	0	0
Mopti	2	2	1	50	1	50	0	0
Tombouctou	5	5	5	100	0	0	0	0
Gao	2	2	0	0	2	100	0	0
Bamako	59	59	38	64,40	18	30,50	3	3
Total	100	100	65	65	32	32	3	3

Les différentes souches sont plus représentées à Bamako suivi de Koulikoro, Ségou et Sikasso.

D'une manière générale dans chaque zone il y a plus de M.tuberculosis que M.africanum sauf à Mopti où on a sur 2 souches 1 souche de M.tuberculosis et 1 souche de M.africanum, à Tombouctou toutes les souches sont de l'espèce tuberculosis par contre à Gao elles sont toutes de l'espèce africanum.

### C. Tests de sensibilité aux antibiotiques

Sur 185 souches testées, 100 seulement dont 97 mycobactéries tuberculeuses ont donné un résultat interprétable.

Tableau VI.: Résistance globale des bacilles tuberculeux sur 97 antibiogrammes réalisés.

Antibiotiques	Souches résistantes		M. tuberculosis		M. africanum	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
I.N.H. seul	14/97	14,43	11	78,57	3	21,43
Streptomycine	6/97	6,18	3	50	3	50
I.N.H. et streptomycine	12/97	12,37	9	75	3	25
I.N.H. et/ou streptomycine	26/97	26,80	20	76,92	6	23,08
Rifampicine	4/97	4,12	3	75	1	25
Total	38/97	39,17	26	68,42	12	31,58

Le tableau montre une résistance globale plus élevée pour l'I.N.H. que pour la streptomycine.

La résistance globale à l'I.N.H. et streptomycine est de 12,37%.

L'éthambutol n'a pas été testé parce qu'il se dégrade au cours de la préparation et donne des résultats <sup>absents qui</sup> n'ont pas été mentionnés ici.



Tableau VII : Résistance secondaire des bacilles tuberculeux sur 97 antibiotogrammes réalisés.

Antibiotiques	Souches résistantes		M. tuberculosis		M. africanum	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
I.N.H. seul	7/39	17,94	5	71,42	2	28,56
Streptomycine seule	3/39	7,69	2	66,66	1	33,34
I.N.H. et streptomycine	9/39	23,07	8	88,88	1	11,12
I.N.H. et/ou streptomycine	19/39	48,71	13	76,47	4	23,53
Rifampicine	3/39	7,69	2	66,66	1	33,34
Total	23/39	58,97	17	73,91	6	26,09

Le tableau montre que les deux antibiotiques couramment utilisés sont hautement touchés par la résistance secondaire. La résistance est de 48,71% à l'I.N.H. et/ou à la streptomycine.

Tableau VIII : Résistance "Primaire" des bacilles tuberculeux sur 97 antibiotogrammes réalisés.

Antibiotiques	Souches résistantes		M. tuberculosis		M. africanum	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
I.N.H. seul	7/58	12,06	6	85,71	1	14,29
Streptomycine	3/58	5,17	1	33,33	2	66,77
I.N.H. et Streptomycine	3/58	5,17	2	66,66	1	33,34
I.N.H. et/ou streptomycine	13/58	22,41	9	69,23	4	30,77
Rifampicine	1/58	1,72	1	100	0	0
Total	14/58	22,41	10	71,43	4	28,57

Le tableau montre une résistance de 22,41% à l'I.N.H. et/ou à la streptomycine. La Rifampicine a une résistance "primaire" de 1,72%.

Tableau IX : Tableau récapitulatif de la résistance globale, secondaire et "Primaire".

Antibiotiques	Résistance globale		Résistance secondaire		Résistance "Primaire"	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
I.N.H. seul	14/97	14,43	7/39	17,94	7/58	12,06
Streptomycine seule	6/97	6,18	3/39	7,69	3/58	5,17
I.N.H. et strepto.	12/97	12,37	9/39	23,07	3/58	5,17
I.N.H. et/ou strep.	26/97	26,80	19/39	48,71	13/58	22,41

Dans notre échantillon 58 malades sont supposés n'ayant pas subi de traitement 39 étaient sous traitement. Ainsi on a 26,80%, 48,71% et 22,41% respectivement de résistance globale, secondaire et "Primaire" à l'I.N.H. et/ou à la streptomycine. Ainsi la résistance "Primaire" au Mali a évolué depuis 1972 de la façon suivante

Tableau X : Evolution de la résistance "Primaire" au Mali

1972 - 1973	1979 - 1980	1980 - 1981	1981 - 1982	1982 - 1983
18%	30%	16%	18,18%	22,41%

A part les chiffres trouvés en 1979 - 1980 (Touré et Sangaré) (67) la résistance primaire, semble se stabiliser autour de 18%. Le chiffre trouvé en 1982 - 1983, n'est pas significativement différent de 18%. Des études ultérieures nous montreront s'il s'agit là du début d'une augmentation du taux de résistance primaire ou au contraire confirmeront la stabilité observée.

## D I S C U S S I O N S

## VI. DISCUSSIONS

A. CULTURE : Elle a donné dans l'ensemble 80,33% de positivité. 43 cultures n'ont pas poussé. Ceci peut être attribué en fait à plusieurs facteurs. Certains de nos malades étant sous traitement, les bacilles vus à l'examen direct peuvent être des bacilles morts. On peut également noter l'irrégularité de la fourniture d'électricité qui peut perturber la végétation des bacilles.

B. IDENTIFICATION : Nous avons identifié 65 Mycobacterium tuberculosis, soit 65%. Ce taux confirme les résultats déjà disponibles, montrant une fréquence plus élevée de cette mycobactérie dans la tuberculose pulmonaire dans notre pays. En effet cette mycobactérie a été retrouvée avec une fréquence de 67,5% en 1972 - 1973 (Grosset et al. (26) ); 67,2% en 1979 - 1980 par Touré et Sangaré et 68,18% en 1981 (50).

Quant à Mycobacterium africanum, nous l'avons retrouvé dans 32% des cas. Ce qui est proche des résultats déjà trouvés : 32,5% en 1972 - 1973 (26) ; 30,4% en 1979 - 1980 (Touré et Sangaré) ; 29,54% en 1981 (50). Ce taux est proche de celui trouvé en Haute-Volta : 31,25% (66) et au Sénégal 25 à 40%.

Il est nettement inférieur à ceux trouvés en Mauritanie : 43% (66), au Niger : 45,5% (66), au Ghana 80% (66), au Nigéria (70%).

En Afrique Centrale et de l'Est ce taux reste encore très élevé de 60 à 90% (66) Cette mycobactérie est absente en Afrique du Nord. Elle apparaît alors comme une espèce de l'Afrique Noire. Elle a été repartie en plusieurs variétés dont les types Dakar, Yaoundé, Rwanda I et Rwanda II. Nous n'avons pas trouvé de Mycobacterium bovis dans notre échantillon. Par contre 3 Mycobactéries atypiques ont été identifiées. Mais nous ne pouvons pas incriminer ces bacilles atypiques dans l'étiologie de l'infection étant donné qu'ils ont été isolés une seule fois et chez des malades déjà sous traitement.

C. Tests de sensibilité aux antibiotiques : Il a été trouvé une résistance globale élevée vis à vis des deux antibiotiques les plus utilisés (I.N.H. et streptomycine) respectivement 14,43 et 6,18%. Remarquons que 12 souches sur les 97 tuberculeuses sont résistantes aux deux drogues simultanément, soit 12,37%.

La résistance secondaire est de 17,97% pour l'I.N.H. et 7,69 pour la streptomycine. 3 souches présentent une résistance secondaire à la Rifampicine soit 7,69%. La résistance primaire est de 22,41% à l'I.N.H. et/ou à la streptomycine. Cette même résistance a été trouvée dans 18% des cas en 1972-1973 (26), 30% en 1979-1980 (Touré et Sangaré), 16% en 1980 et 18,18% en 1981.

La résistance primaire permet de juger de l'efficacité de la lutte antituberculeuse dans un pays. Elle est de l'ordre de 8% en France et en Algérie, 22,41% au Mali, soit plus du double.

L'efficacité de la lutte antituberculeuse tient à la qualité du dépistage bactériologique et à la surveillance du traitement, le 2ème aspect étant plus important que le premier, car il est inutile de découvrir des malades dont on ne peut assurer le traitement correct. Or tous les programmes de lutte antituberculeuse à travers le monde se heurtent au problème de la surveillance thérapeutique. Selon le programme tanzanien, un des plus réussis en Afrique, seulement 50% des malades dépistés arrivent en fin de traitement.

Au Mali environ 15% des malades dépistés suivent le traitement pendant 12 mois (20).

Parmi les principales causes de l'échec de la surveillance du traitement il faudrait noter la longueur du traitement.

C'est pourquoi dans le traitement moderne on s'intéresse de plus en plus à des schémas courts dont l'efficacité a été confirmée par un certain nombre d'enquêtes.

Mitchison a apporté des acquisitions très remarquables dans ce domaine sur des enquêtes menées en Tanzanie et au Kenya (Communication à la 25ème conférence mondiale de l'Un.Int.Tub. à Buenos Aires 15 - 18 Décembre 1982).

Pendant deux mois on a donné quotidiennement I.N.H. - Streptomycine - Rifampicine - Pyrazinamide et pendant les 4 mois suivants I.N.H. - TB, ou I.N.H. seul pendant 4 ou 6 mois. Ainsi sur 194 malades suivis on a enregistré seulement 3% d'échec thérapeutique. Plusieurs études similaires ont été menées dans plusieurs pays.

Un autre point important à souligner est l'indication de l'antibiogramme. A la lumière des nouveaux schémas thérapeutiques associant plusieurs drogues, son intérêt se limite au plan individuel à vérifier la sensibilité de la souche devant une rechute ou un échec thérapeutique. Sinon son principal intérêt réside au plan collectif à avoir une idée d'ensemble sur la sensibilité des souches dans un pays ou dans une région donnée. A cet égard il est intéressant de noter que les études de MITCHINSON (Présentées à la 25ème Conférence Mondiale de la Tuberculose à BUENOS AIRES), ont montré qu'une résistance simple à l'I.N.H. ou la streptomycine a peu d'effet néfaste sur la réussite du traitement. Une résistance double à I.N.H. et streptomycine expose à des échecs lors des schémas de polychimiothérapie conformément au tableau suivant :

Souches résistantes à	Malades traités	échec du traitement
I.N.H. seul	21	0/21
Streptomycine seule	32	0/32
I.N.H. et streptomycine	22	8/22

Le tableau montre qu'une souche résistante à l'I.N.H. seul ou à la streptomycine seule n'influence pas la réussite du traitement en cas de polychimiothérapie.

Nos résultats montrent qu'au Mali 5,17% des malades non traités sont infectés par des souches résistantes doubles à l'I.N.H. + Streptomycine.

NON ISOTONO

## VII. CONCLUSION

Ce travail est la troisième étape d'une enquête entreprise à Bamako pour étudier l'aspect bactériologique de la tuberculose pulmonaire. C'est ainsi que des crachats contenant des bacilles acido-alcool-résistants ont été collectés au D.A.T. de Bamako et étudiés au laboratoire de l'I.N.R.S.P. pendant l'année scolaire 1981-1982.

A l'issue de cette étude nous avons obtenu 80,33% de culture positive. 100 souches ont été identifiées dont :

- 65% de Mycobacterium tuberculosis
- 32% de Mycobacterium africanum
- 3% de Mycobactéries atypiques

Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont révélé une résistance primaire de 22,41% à l'I.N.R.S.P. et /ou à la streptomycine.

I N H

Nous avons également trouvé une résistance primaire à la Rifampicine de 1,72%.

Cette résistance primaire étant très élevée plus de 2 fois celle trouvée en France et en Algérie, la nécessité s'impose de renforcer la lutte antituberculeuse au Mali.

Un des points sur lesquels on doit se baser est la surveillance du traitement étant donné qu'elle conditionne directement la réussite du traitement.

Vu aussi que la longue période du traitement est l'un des principaux facteurs de son échec, une étude en vue de l'introduction des schémas de courte durée serait nécessaire. Un essai pourrait être envisagé sous forme d'un projet pilote dans un secteur limite du pays.



Concernant l'antibiogramme, il s'est révélé à la lumière des nouvelles méthodes thérapeutiques, que son intérêt est plutôt épidémiologique qu'individuel.

Les études commencées depuis 1972 sur la nature et la sensibilité des bacilles tuberculeux isolés au Mali doivent être poursuivies afin d'avoir à tout instant une idée précise du niveau de la Résistance "Primaire" dans notre Pays, donnée essentielle permettant d'apprécier l'efficacité de la lutte antituberculeuse.

## BIBLIOGRAPHIE

1. AUDRIN (J.)  
L'isolement du bacille tuberculeux à partir des produits pathologiques surinfectés. Thèse Pharm. Marseille 1955.
2. BULLA (A.)  
Revue de la morbidité et de la mortalité par tuberculose d'après les données officiellement rapportées dans le monde (1967-1971-1977).  
Bull. Un. Int. Tub. 1981, 56, (3-4) 122-28.
3. BUTTIAUX (R.) et al.  
Manuel de techniques bactériologiques.  
Paris. Med. Flammarion 1963, 505 p.
4. CALMETTE (A.)  
L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux.  
Masson et Compagnie ed. Paris 1936, 1024 p.
5. CANETTI (G.)  
Infectiosité des malades tuberculeux.  
Rev. Hyg. Med. Socio. 1970, 18.
6. CANNETTI (G.) et GROSSET (J.)  
Techniques et indications des examens bactériologiques en tuberculose.  
Tourelle ed. 1968, 193 p.
7. CANETTI (G.), GROSSET (J.) et CENFRANGOLO (A.)  
Une simplification technique de la méthode des proportions pour tests de sensibilité du bacille tuberculeux : l'emploi d'une anse de platine.  
Arch. Int. Past. Alger, 1964, 42, 14-37.
8. CANETTI (G.), RIST (N.) et GROSSET (J.)  
Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions : Méthodologie, critiques de résistance, Résultats, Interprétation.  
Rev. Tub. Pneum. 1963, 27, 217-72.
9. CASTETS (M.), BOISVERT (H.), GRUMBACH (F.), BRUNEL (M.) et RIST (N.)  
Les bacilles tuberculeux de type africain : Note préliminaire.  
Rev. Tub. Pneum. 1968, 32, 179-84.

10. CASTETS (M.), RIST (N.) et BOISVERT (H.)  
La variété africaine du bacille tuberculeux humain.  
Med. Afr. Noire, 1969, 16, 321-2.
11. COLETOS (P.J.)  
Milieux et Modalités de culture adaptés à la réanimation et à la multiplication in vitro de Mycobactérium tuberculosis de vitalité réduite, de viabilité éphémère ou en état de ~~quiescence~~.  
Ann. Inst. Past. 1960, 99, 475-95.
12. CORWIN (H.H.) et al.  
Streptomycin in treatment of clinical tuberculosis.  
Ann. Rev. Tub., 1946, 54, 41-203.
13. COULIBALY (T.B.)  
Contribution à la lutte antituberculeuse en milieu rural au Mali.  
Thèse Med. Bamako, 1980, n° 220.
14. DARRAS (C.) et al.  
Le projet KASONGO : Une expérience d'organisation d'un système de soins de santé primaires.  
Bull. Un. Tub., 1982, 57 (2), 159-62.
15. DAVY (P.E.) et al.  
Rôle de la centrifugation dans la recherche du bacille de Koch par les procédés d'homogénéisation.  
Ann. Inst. Past., 1938, 60, 300-312.
16. DESBORDES (J.)  
Diagnostic bactériologique des mycobactéries (bacilles tuberculeux) et par Tuberculeux.  
Paris, Masson et Cie. éd. 1901, 128 p.
17. DIEMER (J.N.)  
La tuberculose dans le Monde.  
Thèse Med. Toulouse 1970.

18. DIONNE (P.) et al.  
Diagnostic bactériologique de la tuberculose et des mycobactéries.  
Montréal Pres. Univ., 1973, 105 p.
19. DOROTHEE de SOUZA (Y.C.)  
Contribution à l'étude bactériologique, épidémiologique et immunologique  
de Mycobacterium africanum  
Thèse Pharm. Dakar 1974.
20. DOUMBIA (S.)  
Organisation de la chimiothérapie à l'échelle nationale au Mali (à l'ex-  
clusion de la région de Kayes.  
Thèse Med. Bamako, 1978, n°17.
21. DUVAL (J.) et SOUSSY (C.J.)  
Abrégé d'antibiothérapie : Bases bactériologiques pour l'utilisation des  
antibiotiques.  
Masson, Paris 1980, 176 p.
22. EINIS (V.)  
Tuberculose, ed. Mir. Moscou, 1967, 232 p.
23. FOX (W.)  
Où va la chimiothérapie de courte durée ?  
Bull. Un. Int. Tub. 1981, 56 (3-4), 147-67.
24. GROSSET (J.)  
Les principes bactériologiques du traitement de la tuberculose.  
Rev. Prat. Paris, 1979, 29, 2645-2650.
25. GROSSET (J.)  
Hiérarchie des médicaments antibacillaires. Données biologiques.  
XVIIème Congrès National de la tuberculose et des maladies respiratoires.  
Clermont-Ferrand 1974, 3-25.

26. GROSSET (J.) et BENHASSINE  
La thiacétazone (TB<sub>1</sub>) : données expérimentales et cliniques récentes.  
Adv. Tub. Res., 17, 107-153.
27. GROSSET (J.), SANGARE (S.), RIST (N.) et MEYER (L.)  
Caractères cultureux et biochimiques des bacilles tuberculeux isolés chez  
230 tuberculeux pulmonaires du Mali.  
Bull. Un. Int. Tub. 1974, 49 (2), 190-200.
28. GUERITEY (B.)  
La résistance acquise au P.A.S. par le bacille tuberculeux.  
Thèse Med. Lyon, 1951-52.
29. HAUDUROY (P.) et al.  
Bacilles tuberculeux et paratuberculeux : bactériologie, chimie, anti-  
biotiques, chimiothérapie.  
Paris, Masson et Cie ed. 1950, 183 p.
30. HIRTS (E.) et al.  
Thérapeutique des maladies respiratoires et de la tuberculose pulmonaire  
Paris, Baillièrre, 1911, 711 p.
31. KANGOYE (L.T.)  
Contribution à l'étude de la tuberculose de l'enfant en Afrique de l'Ouest  
Thèse Med. Dakar 1976.
32. KEITA (B.)  
Organisation du dépistage de la tuberculose pulmonaire à l'échelle natio-  
nationale au Mali (à l'exclusion des Régions de Kayes et Tombouctou)  
Thèse Med. Bamako, 1979, n°21.

33. KREIS (B.)  
Résistance et survivance du bacille tuberculeux aux médicaments anti-bacillaires.  
Paris, Masson et Cie ed., 1966, 734 p.
34. KONNO (K.)  
New chemical method to differentiate human type tubercle bacilli from other mycobacteria. Sc. 1956, 124-985.
35. KONNO (K.) et al.  
Differentiation of human tubercle bacilli from atypical acid fast bacilli  
I. Niacin production II Clinical application.  
Ann. Rev. Resp. Dis., 1958, 77, 669-80.
36. KOUJOCK (T.A.)  
Les miliaires pulmonaires tuberculeux à Dakar ( à propos de 80 cas )  
Thèse Med. Dakar, 1976.
37. LANGEROVA (M.) et TACQUET (A.)  
Comparaison de différentes méthodes d'homogénéisation et de purification des produits pathologiques en fonction des milieux de culture solides ou liquides.  
Bull. O.M.S., 1968, 39, 663-80.
38. LEBEAU (B.) et ROCHEMAURE (J.)  
Indications, posologie et associations des grandes médications antituberculeuses.  
Rev. Prat. Paris, 1979, 29, 2653-2665.
39. LORIAN (V.)  
Comparison of Mycobacterial cultures on agar and Lowenstein-Jensen medium  
Appl. Microb., 1967, 15, 1202-5.
40. MEDEIROS (D. de) et al.  
Aspects morphologiques comparés de Mycobacterium tuberculosis type sique et de Mycobactérium africanum ( note préliminaire )  
Bull. Soc. Med. Afr. Noire Lang. Franç., 1973, 18, 477-84.

41. MEYER (L.)

Special characteristics of the culture of tubercle bacilli isolated in  
Rwanda, Complementary document (1) 53-62.

42. MEYER (L.) et DAVID (H.)

Mycobactériologie en Santé Publique.  
Inst. Past. Paris 1977.

43. MITCHISON (D.A.)

Organisation des services de laboratoire pour la tuberculose dans les  
pays en développement.  
Bull. Un. Int. Tub., 1982, 57 (2), 142-49.

44. NADIO (A.)

Le traitement d'attaque de la tuberculose pulmonaire du noir africain  
non transplanté par la rifampicine (à propos de 75 malades)  
Thèse Med. Dakar, 1976.

45. NEGRE (L.) et BRETEY (J.)

Les bacilles de Koch incomplètement évolués dans l'infection tubercu-  
leuse. Paris, Masson, 1955, 92 p.

46. REHE (J.) et al.

The effect of water soluble lipids on the growth and biological proper-  
ties of tubercle bacilli. Am. Rev. Tub., 1946 : 54, 204-212.

47. RIGOU (R.L.)

Contribution à l'étude des procédés de concentration des bacilles tubercu-  
culeux pour leur recherche dans les crachats.  
Thèse, Pharm. Paris 1949.

48. RIST (N.) et GRUMBACH (F.)

Résistance du bacille tuberculeux à l'hydrazide de l'acide isonicoti-  
nique : isoniazide.  
Rev. Tub. 1952, 16, 665-669.



57. STONE (B.B.)

Recherche sur la culture de Mycobacterium tuberculosis, variété bovis  
Bull. Off. Int. épizooties, 1952, 37, 662.

58. STYBLO (K.) et ROVILLON (A.)

Estimations concernant l'incidence de la tuberculose pulmonaire positive  
à l'examen des frottis d'expectoration, non fiabilité des chiffres offici-  
ciels rapportés de tuberculose.

Bull. Un. Int. Tub. 1981, 56, (3-4) 129-37.

59. SULA (L.)

Comparative trials with different decontaminating Agents for growing  
Mycobacterium tuberculosis from sputum specimens.

Bull. O.M.S., 1968, 39, 647-55.

60. SUTHERLAND (I.)

Epidémiologie de la tuberculose vaut-il mieux prévenir que guérir ?

Bull. Un. Int. Tub., 1981, 56, (3-4), 139-46.

61. SY (B.)

Considérations épidémiologiques et aspects radio-cliniques de la tubercu-  
lose pulmonaire au Mali.

Thèse Med. Bamako, 1974, n°6.

62. TACQUET (A.) et TISON (F.)

Etude technique de deux tests nouveaux d'identification des mycobacté-  
ries humaines, bovines et atypiques.

Rev. Tub. Pneum., 1960, 24, 713-22.

63. TACQUET (A.), TISON (F.), DEVULDER (B.) et ROOS (Ph.)

Techniques actuelles de décontamination des produits pathologiques en  
vue de la culture des mycobactéries.

Bull. Un. Int. Tub., 1967, 39, 23-27.