

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But - Une Foi

Ecole Nationale de Médecine et de
Pharmacie du Mali

Année : 1989

N° 18 /

NOUVELLE CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA
RESISTANCE PRIMAIRE *du* BACILLE TUBERCULEUX
AU MALI

THESE



Présentée et soutenue publiquement le 1990

devant l'Ecole Nationale de Médecine et de pharmacie du Mali

par : Mlle AOUA BA

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY

PRESIDENT : Professeur Souleymane SANGARE

MEMBRES : Professeur Bréhima KOUMARE

Docteur Bah KEITA

Docteur Flabou BOUGOUDOGO

Directeur de Thèse : Professeur BREHIMA KOUMARE

**LISTE DU PERSONNEL DE L'ECOLE
NATIONALE DE MEDECINE ET DE
PHARMACIE POUR
L'ANNEE UNIVERSITAIRE 1988 - 1989**

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI

ANNEE UNIVERSITAIRE 1988 - 1989

Professeur Sambou SOUMARE	Directeur Général
Professeur Bocar SALL	Directeur Général Adjoint
Docteur Hubert BALIQUE	Conseiller Technique
Hama B. TRAORE	Econome

D.E.R. DE CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

I - PROFESSEURS AGREGES

Professeur Mamadou Lamine TRAORE	Chef de DER Chirurgie Générale Médecine Légale
Professeur Aliou BA	Ophtalmologie
Professeur Bocar SALL	Orthopédie-traumatologie, Secourisme
Professeur Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Professeur Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Professeur Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Professeur Abdoul Alassane TOURE	Orthopédie-Traumatologie

2 - ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Bénitiéni FOFANA	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Mme SY Aïda SOW	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Kalilou OUATTARA	Urologie
Docteur Amadou Ingré DOLO	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Mamadou Lamine DIOMBANA	Odonto-Stomatologie
Docteur Djibril SANGARE	Chirurgie Générale, soins infirmiers
Docteur Salif DIAKITE	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Massaoulé SAMAKE	Gynécologie-Obstétrique
Docteur Mme TRAORE Jeannette THOMAS	Ophtalmologie
Docteur Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Docteur Alhousseïni Ag MOHAMED	O.R.L
Docteur Cheick Mohamed Chérif CISSE	Urologie
Docteur Gérard TRUSCHELL	Chirurgie

3 - ASSISTANTS ET C.E.S.

Docteur Abdoul Kader TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale
Docteur Daba SOGODOGO	Chirurgie Générale
Docteur Lassana KOITA	Chirurgie Générale
Docteur Sékou SIDIBE	Orthopédie-Traumatologie
Docteur Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Docteur Sidi Mohamed COULIBALY	Ophtalmologie
Docteur Mamadou A. CISSE	Urologie
Mme COUMARE Fanta COULIBALY	T.P. Soins Infirmiers

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1 - PROFESSEURS AGREGES

Professeurs Souleymane SANGARE	Chef de D.E.R Pneumo- Phtisiologie
Professeur Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Professeur Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Professeur Mamadou Kouréissi TOURE	Cardiologie
Professeur Mahamane MAIGA	Néphrologie
Professeur Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Professeur Baba KOUMARE	Psychiatrie
Professeur Moussa TRAORE	Neurologie
Professeur Issa TRAORE	Radiologie
Professeur Mamadou Marouf KEITA	Pédiatrie

2 - ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Balla COULIBALY	Pédiatrie
Docteur Sidi Yéhia TOURE	Réanimation
Docteur Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Docteur Eric PICHARD	Médecine Interne
Docteur Sanoussi NANAKASSE	Dermatologie-Léprologie
Docteur Boubacar DIALLO	Cardiologie
Docteur Dapa Ali DIALLO	Hématologie-Médecine Interne

ASSISTANTS ET C.E.S.

Docteur Moussa MAIGA	Gastro-Entérologie
Docteur Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Docteur Hamar Alassane TRAORE	Médecine Interne
Docteur Somita M. KEITA	Dermatologie-Léprologie
Docteur Mme KONARE Habibatou DIAWARA	Dermatologie-Léprologie
Docteur Kader TRAORE	Médecine Interne

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1 - PROFESSEURS AGREGES

Professeur Bréhima KOUMARE	Chef de D.E.R. Microbiologie
Professeur Siné BAYO	Anatomie Pathologie Histologie-Embriologie
Professeur Abdel Karim KOUMARE	Anatomie
Professeur Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique

2 - DOCTEURS D'ETAT

Professeur Yéya Tiémoko TOURE	Biologie
Professeur Amadou DIALLO	Biologie-Génétique

3 - DOCTEURS 3ème CYCLE

Professeur Boubou DIARRA	Microbiologie
Professeur Moussa HARAMA	Chimie Organique Minérale
Professeur Massa SANOGO	Chimie Analytique
Professeur Niamanto DIARRA	Mathématiques
Professeur N'Golo DIARRA	Botanique
Professeur Souleymane TRAORE	Physiologie Générale
Professeur Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Professeur Salikou SANOGO	Physique
Professeur Mme THIAM Aïssata SOW	Biophysique
Professeur Daouda DIALLO	Chimie Minérale
Professeur Abdoulaye KOUMARE	Chimie Générale
Professeur Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Professeur Bakary M. Cisse	Biochimie
Professeur Godefroy COULIBALY	T.P. Parasitologie
Professeur Mamadou KONE	Anatomie-Physiologie humaine
Professeur Jacqueline Cisse	Biologie Animale
Professeur Bakary SACKO	Biochimie

4 - ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Ogobara DOUMBO	Parasitologie
Docteur Yéya MAIGA	Immunologie
Docteur Abderhamane Sidèye MAIGA	Parasitologie

5 - MAITRE ASSISTANT

Docteur Hama CISSE	Chimie Générale
--------------------	-----------------

6 - ASSISTANTS

Docteur Flabou BOUGOUDOGO	T.P. Microbiologie
Docteur Amadou TOURE	Histo-Embryologie
Docteur Abdoul K. TRAORE dit DIOP	T.P. Anatomie

7 - CHARGE DE COURS

Monsieur Modibo DIARRA	Diététique- Nutrition
------------------------	-----------------------

D.E.R. DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1 - PROFESSEURS AGREGES

Professeur Boubacar CISSE	Chef de D.E.R Toxicologie
---------------------------	---------------------------

2 - MAITRES ASSISTANTS

Docteur Boulkassoum HAIDARA	Législation et Gestion Pharmaceutique
Docteur Boubacar KANTE	Pharmacie Galénique
Docteur Elimane MARIKO	Pharmacodynamie
Docteur Alou KEITA	Pharmacie Galénique
Docteur Arouna KEITA	Matière Médicale
Docteur Souleymane GUINDO	Gestion

3 - DOCTEUR 3ème CYCLE

Docteur Mme CISSE Aminata GAKOU Pharmacie Galénique

4 - ASSISTANT

Docteur Drissa DIALLO Matière Médicale

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1 - PROFESSEURS AGREGES

Professeur Sidi Yaya SIMAGA Chef de D.E.R. Santé Publique
Docteur Hubert BALIQUE Maître de conférence en Santé
Publique

2 - ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Sory Ibrahima KABA Epidémiologie
Docteur Sanoussi KONATE Santé Publique
Docteur Moussa MAIGA Santé Publique
Docteur SOULA Santé Publique

3 - CHARGES DE COURS

Monsieur Cheick Tidiani TANDIA Hygiène du milieu
(Ingénieur Sanitaire)
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA Hygiène du milieu
(Ingénieur Sanitaire)

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur Oumar SYLLA	Pharmacie Chimique
Professeur Humbert GIONO-BARBER	Pharmacodynamie
Docteur Guy BECHIS	Biochimie
Professeur François MIRANDA	Biochimie
Professeur Alain GERAULT	Biochimie
Docteur Marie Hélène ROCHAT	Pharmacie Galénique
Docteur Alain LAURENS	Chimie
Docteur François ROUX	Biophysique
Monsieur El Hadj MaKhtar WADE	Bibliographie
Professeur Pierre Jean REYNIER	Pharmacie Galénique
Professeur GENIAUX	C.E.S. Dermatologie
Professeur LAGOUTTE	C.E.S Ophtalmologie
Professeur Philippe VERIN	C.E.S. Ophtalmologie
Professeur Mme Paulette GIONO-BARBER	Anatomie-Physiologie Humaine .

J E

D E D I E

C E

T R A V A I L

A la mémoire de ma mère,

tu fus cruellement arrachée à notre amour au moment où nous avions le plus besoin de toi. Profondément maternelle, toujours soucieuse de notre bien être et de notre réussite, tu n'as jamais cessé d'être disponible pour nous, même aux moments les plus critiques. Tu resteras toujours présente dans nos coeurs. Que ton âme repose en paix !

A mon père,

ton amour du sacerdoce, ton dévouement, ta disponibilité ont suscité mon admiration et ont certainement inspiré le choix de ce métier.

A vous deux,

Vous avez été pour moi un exemple merveilleux tant par vos qualités humaines que professionnelles ; ma tâche sera de toujours oeuvrer pour ne pas démeriter. Ce travail n'est que la modeste oeuvre de l'éducation et de l'amour du travail que vous nous avez inculqué. Nous sommes fiers de ce que vous nous avez appris et en guise de remerciements et reconnaissance pour l'aide matérielle et morale que vous n'avez cessé de nous apporter, trouvez ici le témoignage partiel de notre gratitude et de notre indéfectible et filial attachement.

A ma tante Djénébou DOUMBIA,

C'est l'occasion pour moi de te remercier du soutien moral et matériel que tu m'as toujours apporté. Trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de mon attachement.

A mon fiancé,

tu as su me comprendre, m'aider et être patient tout au long de l'accomplissement de ce travail.

Trouve ici l'expression de ma tendre affection, de mon indéfectible attachement et de ma reconnaissance pour l'aide morale et matérielle que tu n'as cessé de m'apporter. Sois en remercié.

- A la mémoire de mon oncle Sékou Oumar BA,

A toi qui aurais tant voulu voir ce jour. Tu fus cruellement arraché à notre amour. Tes grandes qualités tant humaines que scientifiques t'avaient fait aimé de tous et avaient forcé notre admiration. Tu resteras pour nous un exemple et une source éternelle d'inspiration. Cette thèse n'est que le faible témoignage de ma reconnaissance et de mon indéfectible et filial attachement.

.../...

- A la mémoire de ma tante Mme FALL AISSATA DIALLO, dite Aya,

- A la mémoire de mon oncle Boubacar BATHILY,
En témoignage de ma filiale et affectueuse reconnaissance.

- A la mémoire de mes grands parents paternels,
A la mémoire de mon grand père maternel,
En témoignage de mon affection.

Que vos âmes reposent en paix !

- A mes oncles paternels,
El Hadj Mamadou BA, Docteur Tahirou, Tonton Abdoulaye BA

- A mes tantes paternelles,
Néné BA, Mariam BA, Mme KEITA Ouleïmatou BA, et Mme Flany BA.

Trouvez ici l'expression de mon profond attachement.

- A ma soeur Mme SIDIBE Aïssata BA,
trouve ici l'expression de mon affection fraternelle et de ma reconnaissance pour
l'aide morale et matérielle que tu m'as toujours apportée.

-- A mes frères Baba, Papé et Ousman et à mes soeurs Tita et Bébé.
En faible témoignage de mon affection fraternelle

- A mon oncle Moussa DIAKITE et ma tante Oumou DIALLO,
pour vous remercier de la gentillesse et l'affection avec lesquelles vous m'avez
reçue lors de mon séjour chez vous. Trouvez ici l'expression de ma gratitude et
de mon indéfectible et filial attachement.

A ma grand-mère maternelle,
En témoignage de mon affection.

- A mes oncles maternels,
Modibo DIALLO, Kader DIALLO, Mamoudou Sidy DIALLO, Sally DIALLO, Isack DIALLO

A mes tantes maternelles ,

Fanta Sidy DIALLO, Mama Sira DIALLO, Mamou Sidy DIALLO, Assan OUATTARA.

Votre gentillesse et votre sens profond de la famille n'ont toujours apporté beaucoup de joie et de réconfort. C'est l'occasion pour moi de vous en remercier et de vous renouveler tout mon attachement et ma reconnaissance.

- A tous mes cousins et cousines,

Avec mes sentiments les plus affectueux.

A la famille Cheick Sadibou **DIAGNE**

En témoignage de ma reconnaissance et de mon attachement.

A la famille feu Boubacar **BATHILY** à Mopti et Bamako,

A la famille Boubacar **TOURE** et à Hawoye

A la famille Sékou Minandiou **TRAORE**,

En témoignage de mon attachement.

A la famille feu Mama **SAMASSEKOU**,

A mon amie et soeur Fatouma **TOURE**,

En souvenir de tous les moments passés ensemble et pour te dire " **MERCI** ".

A mon beau-frère **TOUMANI SIDIBE** et à mes neveux Iba et Nata, trouvez ici l'expression de mon affection.

A mes amis :

- Mr. Yacouba D. **TRAORE**

- Mr. Ahmadou **COULIBALY** et Mme **COULIBALY Sira SIMAGA**

- Mr. Dramane **SANGARE** et Mme **SANGARE Fanta SAMAKE**

- Maïmouna **N'DIAYE**, Aminata **BALLO**, Mme **SY Fatoumata KHANE**,

et à travers vous vos familles,

qu'ils trouvent ici l'expression sincère de mon amitié et de ma profonde gratitude.

A tous mes camarades de promotion et plus particulièrement à Mme **MAIGA**, Rokia **SANOOGO**, Ina **DOLO**, Djénéba **THERA**, et Dabatié **TANGARA**.

A tous nos Maîtres,

.../...

pour l'enseignement et l'initiation professionnelle qu'ils nous ont donnés.
Qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

A tout le personnel de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Point "G".

A tout le personnel du Laboratoire de Bactériologie de l'I.N.R.S.P. et particulièrement aux :

- Docteur Flabou BOUCOUDOGO
- Mme COULIBALY Albertine
- Mr. DIAKITE Mamadou
- Mr. Tiéwary DOUMBIA
- Mr. TRAORE Tidiane
- Mr. Yossi.

A tout le personnel du D.A.T. et plus particulièrement aux :

- Dr. DIALLO
- Mr. Seydou COULIBALY
- Mr. Baba COULIBALY

A tout le personnel du Service de Pneumo-phthisiologie de l'Hôpital du Point "G" et plus particulièrement aux :

- Dr. Bah KEITA
- Major KOUYATE.

pour l'aide qu'ils n'ont cessé de nous apporter à la réalisation de ce travail.

A Mme CISSE, ma dactylographe, pour sa gentillesse et sa disponibilité. Je garderai longtemps le souvenir de votre accueil.

A notre Président de Thèse,

Monsieur le Professeur SANGARE Souleymane, Directeur du Centre National d'Immunisation,
Médecin Chef de la Lutte Antituberculeuse,
Chef du Service de Pneumo-Phtisiologie de l'Hôpital du Point "G" Bamako..

Vous nous faites un grand honneur et un grand plaisir en acceptant de présider cette Thèse.

Nous avons eu l'occasion d'apprécier vos hautes qualités humaines et professionnelles à travers nos confrères médecins.

Veillez trouver ici, l'expression de notre sincère admiration et de notre profond respect.-

A notre Maître et Juge.

Monsieur le Professeur KOUMARE Bréhima,
Chef du Service de Bactériologie à l'Institut National de
Recherche en Santé Publique,
Professeur agrégé en Microbiologie.

Nous sommes très honorée que vous ayez bien voulu accepter la direction de ce travail et nous faire bénéficier de votre très grande compétence en matière de tuberculose.

Votre rigueur dans la recherche scientifique, votre dévouement dans le travail, vos qualités de formateur, d'organisateur et l'étendue de votre savoir ont forcé notre admiration pour vous.

Vos multiples qualités humaines laisseront en nous un souvenir indélébile.

Permettez - nous de vous adresser l'expression de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.-

A notre Maître et Juge,
Monsieur le Docteur Bougoudogo Flabou,
Assistant et C.E.S. en Microbiologie.

Nous avons pu apprécier l'étendue de votre savoir, vos qualités humaines et professionnelles et votre disponibilité au cours de l'élaboration de cette Thèse.

Malgré vos multiples occupations, vous nous faites l'honneur de faire partie de notre jury.

Permettez-nous de vous en remercier et de vous témoigner notre profonde gratitude.-

A notre Maître et Juge,

Monsieur le Docteur KEITA Bah,

Spécialiste en Pneumo-phtisiologie à l'Hôpital du Point "G"

Assistant Chef de Clinique à l'E.N.M.P.

Nous avons été très honorée de la spontanéité avec laquelle vous avez accepté d'être parmi nos juges, malgré vos multiples occupations.

Nous avons pu apprécier à maintes occasions vos hautes qualités humaines et professionnelles. Nous vous remercions pour l'aide précieuse que vous nous avez accordée au cours de nos travaux.

Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

R E S U M E :

Cette étude sur la nature et la sensibilité des bacilles tuberculeux au Mali a porté sur 460 prélèvements parmi lesquels nous avons eu des examens directs positifs 310 fois. C'est parmi ces examens positifs que nous avons effectués des cultures qui ont été positives 226 fois. Sur ces 226 souches positives nous avons procédé à l'identification de 120 souches dont 3 mycobactéries atypiques. Nous avons pu établir que le pourcentage d'hommes infectés était plus élevé que celui des femmes infectées.

Nous avons effectué des tests de sensibilité sur 60 souches parmi lesquelles 43 provenaient de malades jamais traités. C'est sur ces malades que notre étude a porté. Nous avons ainsi pu établir des taux de résistance primaire aux différents antibiotiques utilisés dans notre pays et suivre leur évolution depuis 1972 et les comparer à ceux d'autres pays de l'Afrique de l'Ouest.

Nous avons en particulier mis en évidence le taux de résistance double I.N.H. + S.M. qui est de 18,60 % et ^{le} taux de résistance à la rifampicine qui est de 2,33%. Etant donné que la chimiothérapie de courte durée est appelée à se généraliser au Mali, nous avons avec intérêt identifié ces taux de résistants à I.N.H. + S.M. En effet ces résistants sont causes d'échecs dans les régimes de chimiothérapie de courte durée.

S O M M A I R E

	<u>PAGE</u>
INTRODUCTION	1
<u>Ière PARTIE</u> :- GENERALITES	4
I - HISTORIQUE	5
II - CLASSIFICATION, NOMENCLATURE.....	10
III - ASPECT BACTERIOLOGIQUE DU GENRE MYCOBACTERIUM	
MYCOBACTERIES DE LA TUBERCULOSE.....	12
A. <u>Mycobactérium tuberculosis</u>	12
B. <u>Mycobactérium bovis</u>	32
C. <u>Mycobactérium africanum</u>	35
D. Mycobactéries atypiques	38
E. La pandémie de la tuberculose	43
<u>IIème PARTIE</u> - MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX.....	46
I - BASE BACTERIOLOGIQUE DES TRAITEMENTS DE LA TUBERCULOSE	47
II - MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX	50
III - LES REGIMES THERAPEUTIQUES.....	59
<u>IIIème PARTIE</u> - METHODOLOGIE	62
I - PRELEVEMENTS DES PRODUITS PATHOLOGIQUES	63
II - EXAMEN MICROSCOPIQUE	63
III - PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE	66
IV - LA CULTURE	68
V - IDENTIFICATION	69
VI - TESTS DE RESISTANCE DU BACILLE TUBERCULEUX AUX ANTIBIOTIQUES.....	73
<u>IVème PARTIE</u> :- R E S U L T A T S	79
I - EXAMEN DIRECT	80
II - LA CULTURE	80
III - REPARTITION DES PRELEVEMENTS	81
IV - IDENTIFICATION.....	83
V -TESTS DE SENSIBILITE	63

<u>Vème PARTIE</u> : - D I S C U S S I O N	85
I - EXAMEN DIRECT ET CULTURE	86
II - REPARTITION DES PRELEVEMENTS	86
III - IDENTIFICATION	87
IV - TESTS DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES	89
C O N C L U S I O N	95
B I B L I O G R A P H I E	98

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

La tuberculose demeure l'un des problèmes majeurs de santé publique au Mali, pays en voie de développement, et cela malgré l'avènement depuis une vingtaine d'années de stratégies de lutttes simples et efficaces.

Dans notre pays, on estime à 180 pour 100.000 habitants l'incidence annuelle des nouveaux cas bacillifères (68). Pour combattre ce fléau, le Mali a mis sur pied un programme national de lutte contre la tuberculose basé sur la prophylaxie, le dépistage et le traitement des malades.

Le volet prophylaxie qui consiste à la vaccination B.C.G. est intégré depuis 1986 à l'action du programme élargi de vaccination. La population cible est constituée par les enfants de 0 à 6 ans.

Quant au système de dépistage, il repose sur l'identification des sources d'infection par la recherche des bacilles tuberculeux dans les crachats. C'est ainsi que sur le territoire national des techniciens formés et supervisés assurent, dans 22 centres de santé, le dépistage des cas suspects. La mise en évidence du bacille tuberculeux dans les crachats entraîne la prise en charge immédiate du malade selon l'un des schémas thérapeutiques établis au niveau national. Cette thérapie est constituée par une polychimiothérapie antibacillaire.

On sait que la résistance du bacille aux drogues antibacillaires est un des problèmes majeurs du traitement de la tuberculose et un souci constant des bactériologistes et des cliniciens.

On décrit chez le bacille tuberculeux 2 types de résistance :

- la résistance primaire qui est la résistance des bacilles isolés chez un sujet n'ayant jamais été traité par un antituberculeux ;
- la résistance secondaire, qui est celle qui apparait chez un malade au cours du traitement.

Le niveau de la résistance primaire est le reflet de l'efficacité de la lutte antituberculeuse dans un pays. Notre étude qui porte sur l'identification des souches de bacilles tuberculeux et l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques est une contribution à la lutte antituberculeuse dans notre pays.

Elle a consisté de Février 1989 à Mars 1990 à :

- dépister les nouveaux cas de tuberculose,
- procéder à la culture ;
- procéder à des tests de sensibilité aux antibiotiques,
- fournir des données sur le taux et la nature de la résistance primaire.;

Notre travail s'est effectué au laboratoire de Bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P.) de Bamako et a porté sur 460 prélèvements parmi lesquels nous avons assuré la culture de 310 échantillons, l'identification de 120 souches et la détermination de la sensibilité aux drogues antibacillaires de 60 souches.

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

- Généralités
- Médicaments antituberculeux
- Méthodologie
- Résultats des travaux personnels
- Discussion
- Conclusion

*

*

*

1ÈRE - PARTIE

G É N É R A L I T É S

I. - H I S T O R I Q U E

I. - 1. G E N E R A L I T E S

Maladie connue depuis la plus haute antiquité, la tuberculose est restée longtemps confondue avec les autres affections de la poitrine.

Hippocrate accorde une place importante aux Phtisies lorsqu'il mentionne les infections broncho-pulmonaires et pleurales. Plus tard d'autres comme Galien et Coelius Aurelius décrivent aussi bien que lui cette maladie en distinguant différents aspects cliniques

A l'époque de la Renaissance, en Europe Girolamo de Fracastor est le premier (11) à mettre en cause les microorganismes dans la pathogénicité et la transmission inter-humaine de la maladie. Cette découverte n'eut pas de suites immédiates. En matière de tuberculose, c'est le 19^e siècle qui est le siècle de grande rénovation.

En effet, apparaît à cette époque une série de publications relatives à la future méthode anatomoclinique. Tel est le cas de celle si clairvoyante de Gaspard Laurent Bayle "Recherche sur la Phtisie pulmonaire" où il y décrit la granulation miliaire et plusieurs aspects anatomiques de la Phtisie tuberculeuse. Au début du siècle, Théophile René Marie Hyacinthe Laennec écrivit une oeuvre mémorable "de l'auscultation médiate". Il individualise les lésions tuberculeuses, et a pu échafauder non seulement la phtisiologie, mais aussi l'essentiel de la pneumologie moderne sur des bases anatomocliniques irremplaçables. En 1825, Louis confirme ces travaux dans les "Recherches Anatomocliniques sur les Phtisies".

En 1865, Villemin soupçonne le caractère microbien de la tuberculose. Il démontre le caractère infectieux de la maladie tuberculeuse en inoculant au lapin et au cobaye des broyats de lésions humaines. La maladie ainsi provoquée est transmissible d'un animal à un autre et identique à la phtisie humaine. Il tire la conclusion suivante :

La « tuberculose est une maladie spécifique. La cause réside dans un agent inoculable ».

En 1882, Robert Koch découvre le bacille responsable de la tuberculose et le colore. Il démontre de façon définitive et nette la nature infectieuse et la spécificité de la maladie. Ehrlich découvre peu après, l'acido-résistance du bacille tuberculeux en montrant qu'en le colorant par la fuschine anilinée ; il n'est pas décoloré

par l'acide nitrique au tiers. Bientôt, Ziehl met à la place de la fuschine anilinée de la fuschine phéniquée et Neelsen divulgue la méthode de coloration dite de Ziehl - Neelsen qui est couramment utilisée depuis lors.

En 1884, Koch fait pousser le bacille sur sérum coagulé.

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

En 1891, Koch décrit le phénomène immunologique qui porte son nom et met au point la première tuberculine. En 1907, Von Pirquet décrit les réactions cutanées tuberculiques.

De 1908 à 1920, Calmette et Guérin obtiennent le bacille qui porte leur nom : Bacille de Calmette et Guérin (B.C.G.) et qui est le vaccin contre la tuberculose. Il est employé pour la première fois en 1921.

Youmans effectue des travaux de 1953 à 1956 sur le métabolisme du bacille tuberculeux.

Drea et Andrejeu (25) en 1953 font la synthèse des connaissances acquises sur le métabolisme du bacille tuberculeux. La même année White Head (75) met au point la technique de recherche de l'activité arylsulfatasique des mycobactéries.

En 1956, Konno (36) décrit le Niacin-Test.

Bronckes décrit en 1960 (66) le spectre amidasique des bactéries et Virtanen (66) étudie la même année leur aptitude à utiliser et à transformer les nitrates. En même temps Andrejeu (66) montre d'importantes variations de l'activité lipasique au sein de différentes espèces. Il étudie également l'activité peroxydasique des mycobactéries.

I.2 - HISTORIQUE DE LA CLASSIFICATION

Zahn en 1884 (80) fut le premier à attirer l'attention sur la présence dans les crachats d'un sujet non phtisique d'éléments microbiens ayant le même aspect que le bacille tuberculeux et résistant comme lui à l'action des acides.

Les travaux de Rivolta en 1889, puis Maffucci en 1890 permettent l'identification du bacille tuberculeux aviaire. R. Koch déclare en 1890 au Congrès International de Médecine de Berlin : "je n'hésite pas à considérer les bacilles de la tuberculose des poules comme une espèce à part quoique très rapprochée des vrais bacilles de la tuberculose".

En 1896, Henssen crée le genre Mycobactérium. En 1901, Marmoreck (66) propose au Congrès International de Londres de distinguer les bacilles tuberculeux (humain, bovin, aviaire) des bacilles paratuberculeux habituellement saprophytes.

En 1902 la différence est faite entre le bacille bovin et le bacille humain à la suite de travaux de Théobald Smith de 1896 à 1898.

Dès lors les trois grandes variétés de bacilles pathogènes (humain, bovin, aviaire) sont connues ainsi que de nombreuses mycobactéries commensales ou saprophytes appelées bacilles paratuberculeux.

De 1900 à 1950 ce dernier groupe va s'augmenter de nouvelles espèces et devenir comme l'écrivait Hauduroy (33) : "une sorte de dépôt dans lequel on rejette tout ce qui ne répond pas aux normes classiques, tout ce qui n'est pas le bacille de Koch authentique".

De nombreuses observations cliniques effectuées durant cette période démontrent la pathogénicité de certains bacilles paratuberculeux. Cela a permis de conclure que la présence de ces germes dans les produits pathologiques ne sont pas toujours des souillures et ne doivent pas être considérés systématiquement comme tels. Dietrich en 1899 (66), Laporte en 1940 (66), Feldman en 1943 (24) révèlent la présence de mycobactéries atypiques dans de nombreux prélèvements.

Une période importante est franchie lorsqu'en 1946, Hauduroy (66) au terme d'un inventaire conclut : "il est possible d'affirmer que quelques rares bacilles paratuberculeux sont virulents pour l'homme, provoquant chez lui des infections diverses de gravité minime dans l'ensemble".

En 1950, Penso soumet une classification si complexe, qu'elle ne reçoit pas d'applications pratiques. Zeller et Owen (66) une année après étudient de façon systématique les systèmes enzymologiques des bactéries.

En 1953, Buhler et Pollack (10) à Kansas City ont été les premiers à prouver de façon indubitable le rôle pathogène certain des bacilles paratuberculeux.

En 1956, Agius (1) fait part des premières observations d'adénites à "mycobactéries atypiques".

Kaplan (66) indique 2 cas puis Nouflard (66) en diagnostique 21.

Des ostéites chroniques récidivantes, provoquées par des bacilles distincts de M. tuberculosis et de M. bovis sont décrits par Weed en 1956 (74).

Dès lors le pouvoir pathogène des bacilles paratuberculeux est clairement mis en évidence et les observations cliniques dans lesquelles ils sont reconnus comme étant les seuls agents étiologiques, se multiplient. Aucun organe n'est épargné et Penso (53) en 1956, au Colloque International d'Anvers, propose de regrouper les formes cliniques observées sous le terme de Mycobactérioses.

Depuis lors les recherches sont effectuées de telle façon que, grâce aux tests biologiques on puisse obtenir une identification précise des différents micro-organismes et par là avoir le moyen de les faire entrer dans la taxonomie bactérienne.

En 1959, Runyon propose une classification simple après avoir regroupé les différents cas d'infections humaines indubitables. Cette classification basée sur des principes parfois subjectifs, souvent inconstants ne répond pas aux exigences de la taxonomie internationale. Malgré ses défauts, elle est la première classification simple et suffisamment exacte pour canaliser les recherches biologiques.

En 1968, Castets, Boisvert, Grumbach, Brunel et Rist décrivent une variété africaine de bacille tuberculeux qui est élevée rapidement au titre d'espèce et prend le nom de Mycobactérium africanum.

I.3 - HISTORIQUE DE LA CHIMIOThERAPIE

Découverte en 1940, de l'effet bactériostatique des sulfamides chez le cobaye infecté par le bacille tuberculeux. Pour la première fois, la démonstration est faite qu'un agent chimiothérapique, un dérivé de la dapsonne connu sans le nom de Promine (sel sodique de gluco-sulfone), pouvait arrêter l'évolution d'une tuberculose chez le cobaye, tuberculose qui sans ce traitement, eut été mortelle (4). Cependant, l'action de la dapsonne et des autres sulfones sur la tuberculose humaine s'est

montrée décevante. Par ailleurs, on a découvert que ces composés étaient efficaces dans le traitement de la lèpre, et la dapsona est toujours le médicament anti-lèpreux de base (77).

En 1944, Waksman démontre la remarquable efficacité de la Streptomycine, antibiotique isolé d'un microorganisme du sol, Streptomyces griseus, sur la tuberculose expérimentale du cobaye. Peu après, elle a été utilisée pour la première fois chez l'homme (63) (25).

Découverte en 1949, du rôle de l'acide para-aminosalicylique (P.A.S.) qui prévient l'apparition de la résistance aux médicaments lorsqu'il est donné en association avec la streptomycine. Depuis lors, l'administration de deux produits ou plus en association est considérée comme un des éléments essentiels d'une bonne chimiothérapie tuberculeuse (67).

En 1952, c'est la découverte de l'activité antituberculeuse de l'isoniazide composé chimique synthétisé 40 ans auparavant. Depuis son introduction l'isoniazide est demeuré l'un des composants majeurs de tout régime thérapeutique de première ligne, en raison de sa haute efficacité, de sa toxicité relativement faible et de son coût minime (67).

En 1956, des résultats étonnants sont obtenus à la suite d'essais thérapeutiques contrôlés effectués à Madras. Ils démontrent que le traitement ambulatoire, à domicile était très efficace, sans pour autant augmenter le risque de contagion pour l'entourage. Ceci a entraîné l'abandon du traitement sanatorial traditionnel et a ouvert de nouvelles perspectives pour l'élaboration dans les pays en développement d'un programme national de traitement applicable dans l'ensemble du pays (7).

Bönicke (9) en 1958 démontre les différences d'activité de l'acide thiophène - 2 - carboxylique (T.C.H.) sur les souches de bacilles tuberculeux bovin et humain.

En 1964, on démontre que les régimes intermittents peuvent avoir une efficacité aussi élevée que celle des régimes continus, offrant ainsi l'avantage d'un traitement qui peut être complètement supervisé (8).

En 1967, la rifampicine est découverte. En 1972, on introduit des régimes de courte durée qui permettent de réduire de moitié la durée classique du traitement sans diminuer l'efficacité thérapeutique. Les implications qui en résultent tant pour le malade que pour les services de santé sont évidentes (9).

II. - CLASSIFICATION NOMENCLATURE

II.1 - NOMENCLATURE :

Les Mycobactéries font partie de la vaste famille des Mycobactériaceae, ordre des Actinomycétales, Classe des Schizomycètes. Cette famille renferme un seul genre : le genre Mycobactérium comportant de nombreuses espèces. L'espèce type est Mycobacterium tuberculosis (LEHMAN et NEWMAN. Holotype M. tuberculosis souche H 37 RV déposé à l'Américan type culture collection N°ATCC 2729) (48).

II.2 - CLASSIFICATION :

On peut classer les mycobactéries en 2 grands groupes :

2.2.1 Les mycobactéries non cultivables sur milieu artificiel.

Ce groupe est composé de :

- M. leprae : ou Bacille de Hansen responsable de la lèpre humaine,
- M. leprae murium : ou Bacille de Stefansky responsable de la lèpre du rat.

2.2.2. Les mycobactéries cultivables sur milieu artificiel.

Ce groupe est composé de mycobactéries tuberculeuses et de mycobactéries atypiques ou opportunistes.

- Mycobactéries tuberculeuses

Elles sont toujours pathogènes pour l'homme chez lequel, elles provoquent la tuberculose humaine.

On distingue :

- ° Mycobactérium tuberculosis : ou bacille tuberculeux humain ou bacille de Koch.
- ° M. bovis : ou bacille bovin responsable de la tuberculose des bovidés et a un pouvoir pathogène chez l'homme égal à celui de M. tuberculosis.
- ° M. africanum : Ces mycobactéries sont responsables de la tuberculose en Afrique au Sud du Sahara. Au Sénégal, elle représente 25 à 45 % des souches de Mycobactéries tuberculeuses isolées chez l'homme, à Yaoundé 74 %, à Accra 8 sur 10, à Kigali 66 %, à Butare 82 % et au Mali 33 % en 1974 (31).
- ° Le B.C.G. (Bacille de Calmette et Guérin). C'est une mycobactérie avirulente dérivée de M. tuberculosis. On peut l'isoler parfois d'adénopathies et d'abcès après vaccination par le B.C.G.

• Les souches de M. tuberculosis et M. bovis I N H (isoniazide) résistantes dont les caractères diffèrent de ceux des souches normales dites "souches sauvages".

- Les mycobactéries atypiques ou opportunistes

Ce sont généralement des mycobactéries saprophytes ou commensales qui peuvent occasionnellement entraîner des affections humaines appelées mycobactérioses. Runyon a proposé une classification de ces mycobactéries en 4 groupes qui sont les suivants :

• Groupe I : Photochromogène : Les mycobactéries photochromogènes se colorent à la suite d'exposition. à la lumière.

• Groupe II : Scotochromogènes : La pigmentation des mycobactéries scotochromogènes apparaît même à l'abri de la lumière.

• Groupe III : Non chromogènes : Les mycobactéries de ce groupe ne se pigmentent ni à la lumière, ni à l'obscurité.

• Groupe IV : à croissance rapide à 37°c les mycobactéries de ce groupe poussent en moins de 7 jours.

*

*

*

III- ASPECT BACTERIOLOGIQUE DU GENRE MYCOBACTERIUM - MYCOBACTERIES DE LA TUBERCULOSE

1. - MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Il est encore appelé bacille tuberculeux ou bacille de Koch.

1. - Habitat

M. tuberculosis est un parasite strict de l'homme mais il est capable d'infecter certaines espèces animales proches de l'homme (chien et plus rarement chat, perroquet animaux de ménagerie etc...). On ne le retrouve pas dans la nature, mais il peut survivre pendant plusieurs jours dans les produits d'expectoration infectés.

2. - Caractères bactériologiques

2.1 - Morphologie :

Dans les produits pathologiques, les bacilles tuberculeux sont des bâtonnets fins et droits qui mesurent de 2 à 5 μm de long sur 0,2 à 0,3 μm de large. Leurs extrémités sont arrondies. Ils sont immobiles, acapsulés et asporulés. Ils se présentent isolés ou en petits amas sous l'aspect d'ébauches de cordes ou de torsades.

En milieu artificiel on observe des formes coccoïdes et filamenteuses (35). Ces formes sont exceptionnelles dans les produits pathologiques. M. tuberculosis peut contenir des granulations cytoplasmiques lorsque la culture est agée ou lorsque le produit pathologique provient de malades sous traitement antibiotique.

M. tuberculosis se colore difficilement par les colorants habituels Gram et bleu. Cependant coloré au rouge par la fuschine phéniquée à chaud, selon la méthode de Ziehl-Neelsen, il retient ce colorant malgré l'action combinée des acides dilués et de l'alcool. On ne peut le décolorer que par traitement à l'iode (35).

Les bacilles tuberculeux se caractérisent par cette acido-alcool - résistance, par exemple l'alcool éthylique contenant 3 % d'acide chlorhydrique (acide - alcool) décolore rapidement toutes les bactéries sauf les mycobactéries.

Après coloration le bacille tuberculeux apparaît comme un fin bâtonnet rouge sur fond bleu. Comme toutes les espèces du genre Mycobactérium, M. tuberculosis présente ce caractère. L'acido-alcool - résistance dépend de l'intégrité de la structure cellulaire. Elle peut varier au cours de l'évolution des mycobactéries. Ainsi les formes jeunes ne sont pas acido-alcool-résistantes mais les formes mûres le deviennent (43).

../...

De plus l'acido- alcoolo-résistance peut disparaître sous l'action de plusieurs antibiotiques (isoniazide, éthionamide, pénicilline à fortes concentrations (43).

L'observation au microscope électronique/^{montre} que la paroi de M. tuberculosis épaisse de 10 à 20 nm, est formée de 4 couches différentes. Au delà de la membrane cytoplasmique existe une couche interne épaisse, opaque et rigide qui correspond au peptidoglycane, puis viennent 3 couches dont les 2 plus internes contiennent des éléments ayant l'apparence de cordage de plus en plus denses et enchevêtrés à mesure que l'on s'approche de la surface de la bactérie (43). La couche externe est constituée d'éléments enrubannés. Lorsque les bacilles sont en pleine croissance, on peut voir à l'intérieur du cytoplasme, du D.N.A fibrillaire lié à des accroissements méso-somales de la membrane cytoplasmique. Celle-ci peut aussi être en rapport avec des inclusions lipidiques. Les ribosomes sont très nombreux. Les bacilles qui ne sont pas en état de vie métabolique maximale, contiennent des corps lipidiques, des grains métachromatiques ainsi que des granulations denses de composition inconnue (43). Ils peuvent aussi faire voir des images de type vésiculaire.

2.2. - Culture

2.2.1 - Caractéristique de la culture :

M. tuberculosis est un aérobie strict qui se caractérise par ses exigences de culture et sa lenteur de croissance. Toute diminution en apport d'oxygène entrave sa culture. C'est pourquoi le germe se développe préférentiellement dans les parties de l'organisme qui sont bien oxygénées (sommets pulmonaires) ou bien vascularisées telles que les vertèbres ou les reins. Les autres localisations de la tuberculose sont paucibacillaires car le B.K. s'y multiplie plus difficilement.

Le B.K cultive à une température optimale de 35° à 37° et à un pH optimum de 6,7 à 6,9.

Sa culture a les 3 caractères suivants qui donnent une place à part à la bactériologie de la tuberculose (12) :

- Elle ne se produit que sur des milieux enrichis.
- Elle donne naissance à des colonies dont l'aspect est spécifique.
- Elle est très lente.

M. tuberculosis se multiplie lentement. Le temps de génération est de 20 h en moyenne. Les colonies sur les milieux de culture ne vont apparaître qu'après une ou plusieurs semaines d'incubation à 37°C. La lenteur de multiplication du B.K

n'est pas le seul fait de l'apparition tardive des colonies, mais elle explique aussi les conditions dans lesquelles doit se faire la mise en culture du bacille. Celui-ci se multipliant beaucoup plus lentement que les bactéries ordinaires, on ne peut ensemer sans traitement préalable des crachats tuberculeux (12). La destruction de ces germes est donc nécessaire avant l'ensemencement. On y arrive à la suite du traitement des produits pathologiques par des agents chimiques (Na OH , H_2SO_4 etc....) qui à la concentration où ils sont utilisés, sont beaucoup moins toxiques pour le bacille tuberculeux que pour les bactéries associées.

Ce traitement nécessite deux temps :

- un premier temps de liquéfaction du mucus, qui permet à la substance toxique d'atteindre les bactéries à détruire.
- un deuxième temps de destruction proprement dite des bactéries saprophytes.

Ces deux temps s'effectuent simultanément et constituent le traitement du crachat appelé improprement homogénéisation, car trop restrictif.

Ce traitement n'est pas nécessaire pour les produits pathologiques non contaminés qui proviennent de cavités naturelles sans communication avec le milieu extérieur (épanchement de séreuses, pûsganglionnaire, abcès non fistulisés etc....).

2.2.2. - Milieux de culture :

M. tuberculosis ne pousse que sur des milieux de culture enrichis. Seuls ceux qui contiennent du sérum (Koch, 1884), de la glycérine (Nocard et Roux, 1887), de la pomme de terre glycérinée (Pawlosky, 1888) de l'oeuf (Capalchi, 1856, Dorset, 1902) ou de l'albumine bovine (Dubos 1945) permettent une culture abondante. On les classe en milieux solides à l'oeuf, milieux gelosés et milieux liquides.

- Milieux solides à l'oeuf :

Le milieu à l'oeuf, le plus couramment employé est le milieu proposé par Loewenstein et modifié par Jensen à base d'oeuf et de glycérine. Ce milieu présente de nombreux avantages : grande sensibilité, aspect caractéristique des colonies, prix de revient relativement faible. Par contre, il a aussi un certain nombre d'inconvénients : comme celle de tous les milieux empiriques, sa sensibilité varie avec la qualité des produits employés pour sa préparation particulièrement les oeufs ; sa préparation est relativement longue et difficile ; sa conservation est de courte durée (1 à 3 mois) et doit se faire au réfrigérateur à + 4°C.

Un ensemencement très riche, soit 10^{-2} mg de bacilles sur milieu de Löwenstein-Jensen donne naissance en 10 jours environ à une nappe opaque, ocrée, à surface légèrement rugueuse, de colonies confluentes. Mais pour un ensemencement plus pauvre en bacilles par exemple 10^{-6} mg, les colonies mettent 2 à 3 semaines pour paraître. Dans ce cas, on voit apparaître de petites colonies arrondies, lisses, et de teinte blanchâtre. En se développant elles prennent un aspect sec, verruqueux, en chou-fleur tandis que leur surface devient franchement rugueuse. En même temps elles augmentent de volume. En vieillissant leur teinte vire du crème beige au chamois. A ce stade, il n'y a pas de confusion possible entre la colonie de M. tuberculosis et une autre. Si les colonies sont bien éloignées les unes des autres sur le milieu de culture, elles peuvent atteindre un diamètre de 5 à 10 mm.

En les prélevant à l'anse ou à la spatule, elles se détachent facilement du milieu parfois d'une seule pièce, parfois en se brisant. Elles se dissocient très mal dans l'eau.

Les colonies de M. tuberculosis sont dites "eugoniques" par opposition aux colonies de petite taille de M. bovis qui sont dites "dysgoniques" (43)

Toutefois l'aspect eugonique en chou-fleur des colonies de M. tuberculosis est caractéristique du milieu de Löwenstein-Jensen mais à condition que l'aération et l'hydratation soient satisfaisantes. Si les milieux sont humides, les colonies peuvent être aplaties d'aspect lisse donc difficiles à identifier. Si les milieux sont desséchés, elles se développeront mal ou pas du tout. Si les milieux sont mal aérés, les colonies seront petites, aplaties avec un petit bourgeon central et une surface luisante. Dans ce cas, elles seront dysgoniques et on peut les confondre avec des colonies de M. bovis. L'addition de pyruvate au milieu de Löwenstein-Jensen n'apporte aucun changement à la morphologie des colonies sauf dans le cas de souches fortement résistantes à l'isoniazide notamment.

- Milieus gélosés :

Middelbrook (49) en 1954 et 1968 met au point les milieux 7 H9, 7H 10 et 7H 11. Ce sont des milieux semi-synthétiques gélosés contenant en plus des constituants constants (sels minéraux, glucose, fraction V d'albumine bovine) des acides aminés, du pyruvate de sodium, de la catalase, du vert malachite qui a un léger pouvoir antiseptique. Ces 3 milieux diffèrent par la composition de la solution minérale et par l'absence dans le 7 H9 de l'acide oléique et par la présence dans le 7 H 11 d'hydrolysate de caséine.

Placés dans des conditions favorables, c'est à-dire dans une atmosphère contenant 10 % de CO₂, ces milieux permettent une bonne croissance du bacille tuberculeux. Dans ces conditions leur sensibilité semble un peu supérieure à celle du milieu de Löwenstein-Jensen. De par leur transparence, les colonies de M. tuberculosis se repèrent facilement et ces dernières sont plates, sèches, rugueuses, friables d'aspect beaucoup moins typique que sur milieu à l'oeuf.

Les milieux semi-synthétiques ont un prix de revient élevé, à cause de cela ils ne sont utilisés que rarement pour la bactériologie de routine du bacille tuberculeux.

- Milieux liquides :

En 1884, Proskauer et Beck (55) mettent au point une formule simple constituée d'une solution tampon dans laquelle le carbonate d'ammonium est la source d'azote et la glycérine celle du carbone. Sauton en 1912 (66) ajoute un acide aminé et du fer. C'est le milieu liquide le plus courant et le plus employé. C'est un milieu totalement synthétique dont les constituants principaux sont les sels minéraux, l'asparagine et la glycérine. Il est utilisé pour la production du B.C.G. et la préparation de la tuberculine. Comme il donne une culture en voile, les repiquages sont faits par transport d'une fraction de ce voile sur la surface d'un milieu neuf.

Deux autres milieux sont couramment employés, le milieu de Youmans et le milieu de Dubos. Youmans (79) en 1947 réalise un milieu semi-synthétique en additionnant au milieu de Proskauer et Beck 10 % de sérum de boeuf stérile. Le bacille tuberculeux y cultive d'abord en profondeur sous forme d'un dépôt que l'agitation disperse en grains plus ou moins gros (43). Ensuite un voile se développe en surface. Avec un ensemencement de 10⁻² mg de bacilles, la culture commence à apparaître en 5 à 7 jours et atteint son maximum en 3 semaines (23). La précocité et la netteté de la culture font du milieu de Youmans un milieu de choix pour la mesure rapide de la sensibilité aux antibiotiques (43).

Trois années plus tard Dubos (22) remplace le sérum de boeuf par la fraction V d'albumine bovine. L'addition de Tween 80 utilisé comme agent mouillant permet une homogénéisation bacillaire de ce fait la culture sera uniforme. Un ensemencement de 10⁻² mg de bacilles tuberculeux, donne des colonies au bout de 5 à 7 jours sous forme d'un dépôt blanchâtre qui se disperse par agitation en donnant un aspect homogène. En 8 à 10 jours la culture produit environ 1mg/ml de bacilles, soit environ 50 millions d'unités formant colonies (43). Ces caractères font du milieu de Dubos

ou de son dérivé moderne, le milieu 7H₉, le milieu de choix pour la préparation de suspensions homogènes de bacilles tuberculeux nécessitées par les travaux expérimentaux (numération bactérienne, ensemencement ou inoculation d'un nombre précis de bacilles) (43).

- 2.3. Caractères biochimiques et produits élaborés :

L'identification de M. tuberculosis repose sur la recherche de cinq caractères principaux :

2.3.1. Présence de la catalase à 22° et 70° c.

Toutes les mycobactéries ont une activité catalasique. Ils décomposent l'eau oxygénée en libérant l'oxygène. La présence de la catalase dans une souche se traduit par un dégagement gazeux lorsque l'on met cette souche en présence d'eau oxygénée. Il existe différents types de catalase que l'on peut distinguer par leur sensibilité thermique. Les catalases sont des enzymes solubles, intracellulaires. L'activité catalasique de M. tuberculosis et encore plus celle de M. bovis et M. africanum, est d'intensité moyenne si on la compare à celle forte d'un grand nombre de mycobactéries atypiques. Elle est détruite par chauffage à 68°c pendant 20 mn alors qu'elle résiste pour toutes les mycobactéries atypiques sauf M. malmoeense et M. gastri. Les souches de M. tuberculosis devenues résistantes à l'isoniazide ont une activité catalasique réduite (43). La réduction est souvent proportionnelle au niveau de résistance à l'isoniazide (10mg/ml) n'ayant habituellement plus d'activité catalasique (41). La réduction de l'activité catalasique s'accompagne d'une réduction parallèle du pouvoir pathogène expérimental pour le cobaye.

2.3.3. Présence de la peroxydase :

La peroxydase est une enzyme qui catalyse des oxydations à partir de l'eau oxygénée. Sa présence se traduit par un noircissement des colonies lorsque celles-ci sont mises en présence d'eau oxygénée et d'un substrat oxydable (catéchol, benzidine, etc...). Comme la catalase, elle manque souvent chez les bacilles résistants à l'isoniazide.

2.3.3. Production d'acide nicotinique :

De tous les bacilles du genre Mycobacterium, le bacille tuberculeux est le seul à accumuler sans l'utiliser une quantité importante d'acide nicotinique ou niacine.

En 1956, Konno a tiré profit de cette propriété pour proposer une épreuve colorimétrique dans laquelle l'accumulation de niacine est révélée par l'aniline et le bromure de cyanogène. La positivité de cette épreuve, connue sous le nom de niacine-test est quasi spécifique de M. tuberculosis. Toutefois un faible pourcentage, environ 1 %, des souches de M. tuberculosis ont un niacine-test négatif tandis que d'autres espèces ont parfois (M. africanum) ou régulièrement (M. simiae, M. chelonei variété niacinogène, M. microti) un niacine-test positif (42). Actuellement le test à la niacine est le test le plus utilisé pour l'identification des mycobactéries

2.3.4. Réduction des nitrates :

M. tuberculosis, comme beaucoup d'autres mycobactéries, mais à la différence de M. bovis et M. africanum, réduit les nitrates en nitrites ($\text{NO}_3 \longrightarrow \text{NO}_2$).

La nitrate-réductase est un enzyme inductible (38). La réduction des nitrates en nitrites est mise en évidence par la technique de Virtanen.

Le nitrite en présence d'acide chlorhydrique se transforme en acide nitreux ($\text{NO}_2 \text{ H}$). Celui-ci réagit avec le sulfanilamide pour donner un composé diazoïque qui forme en présence de N^{alpha} -naphtyldiéthyl propylène diamine un nouveau composé coloré, rouge.

2.3.5. Transformation du citrate en fer ammoniacal :

Certaines mycobactéries ont la propriété d'accumuler les sels de fer et de les transformer en oxyde de fer de couleur brune. En plus de ces caractères, il faut signaler que M. tuberculosis est résistant à l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique (T.C.H.) et sensible au pyrazinamide. De même, il possède d'après Bönicke les 3 amidases suivantes : uréase, nicotinamidase et pyrazinamidase .

2.4. Constitution chimique et antigénique

Dans le monde bactérien, les mycobactéries ont la plus forte teneur en lipide : 20 à 45 %. Ceux-ci représentent 60 % des constituants de la paroi. Etant donné cette particularité et les propriétés qui y sont attachées, la paroi des mycobactéries a fait l'objet d'études approfondies. Sa structure de base est représentée par un peptidoglycane lié d'une manière covalente avec un mycolate d'arabinogalactane (43).

2.4.1. Le peptidoglycane (muraïne, mucopeptide)

Structure de base de la paroi, le peptidoglycane est formé comme les autres bactéries de 2 sucres aminés et de 4 acides aminés. Les sucres aminés sont la N-acetyl-D-glucosamine et l'acide N-glycolyl-muramique qui est un dérivé particulier de l'acide muramique.

Les 4 acides aminés sont : la L- alanine, l'acide D-glutamique, l'acide méso-diaminopimélique (D.A.P.) et la D- alanine;

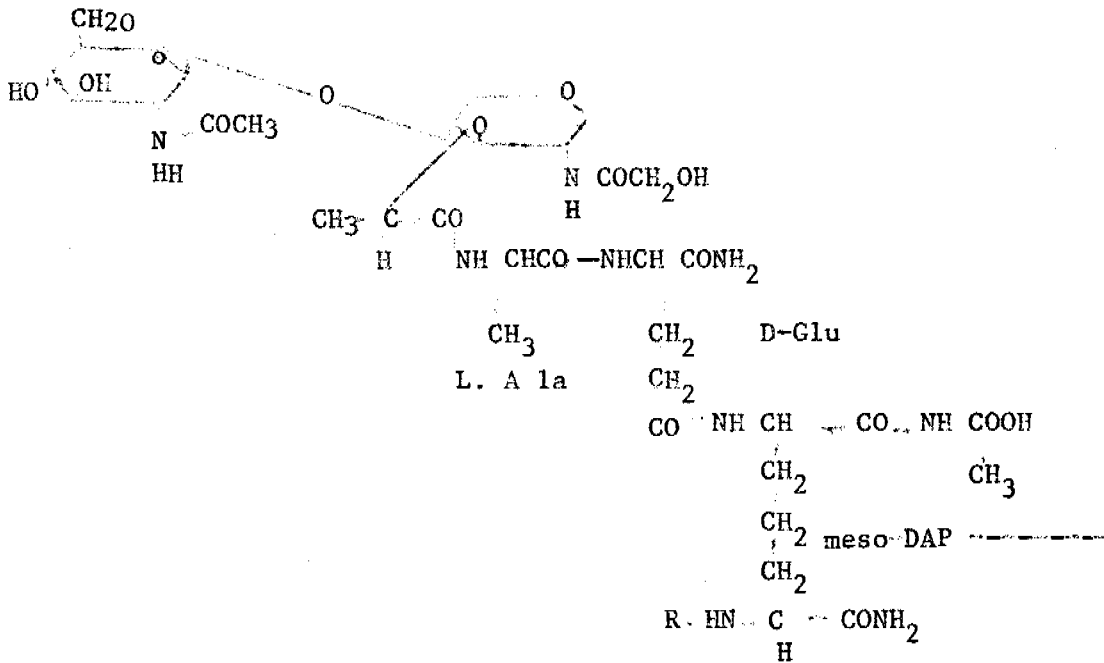


Fig. 1 : Structure du peptido glycane chez les mycobactéries (d'après Barksdale et Kim (3)).

Trois particularités doivent être retenues : l'amidation méso-DAP au niveau du carboxyl terminal, la participation de l'acide D. glutamique à la formation d'un groupement iso-glytamyil ; l'existence de ponts interpeptidiques entre des molécules d'acide méso-DAP qui relie entre elles les unités de peptidoglycane.

2.4.2. Mycolate d'arabino- galactane :

- Au peptidoglycane à structure semblable à celle des autres bactéries vient s'ajouter comme chez les bactéries à Gram négatif, un liposaccharide qui est dans ce cas le mycolate d'arabino-galactane. Les sucres sont l'arabinose et le galactose. Ils sont attachés par des liaisons esters à des acides mycolique qui sont des lipides spéciaux.

2.4.3. L'arabino-galactane :

Il contient en alternance des molécules d'arabinose et de galactose et semble caractéristique des bactéries du genre *Mycobactérium*, *Corynebactérium* et *Nocardia*.

Le galactose et l'arabinose sont présents sous leur forme furanose (cycles à 5 chaînons). Biologiquement l'arabino-galactane représente vraisemblablement la part active des polysaccharides extraits par fractionnements et qui sont des haptènes et non des antigènes (polysaccharides I et II de Seibert, polysaccharide d'Asselineau et Lederer, polysaccharide extrait du « PmKo » de Choucroun) (43).

D'autres polysaccharides, qui sont peut être une forme moins dégradée des premiers ont en plus de leur pouvoir précipitant le pouvoir de « sensibiliser » les globules rouges d'homme et de mouton et de les rendre agglutinables par les sérums de tuberculeux (Middelbrook et Dubos 1948).

La réaction sérologique qui en est issue est peu spécifique (elle est positive chez 10 à 20 % des sujets sains tuberculino-positifs) et peu sensible (elle est négative chez 20 à 30 % des tuberculeux avérés) (23).

2.4.4. Les acides mycoliques (43)

Ce sont de très grosses molécules d'acide gras ramifiés qui ont été découvertes par Anderson en 1938 et longuement étudiées en France par Lederer, Asselineau et Etermadi. Ce sont les seuls constituants acido-résistants des mycobactéries.

2.4.5. Autres glycolipides :

Trois autres glycolipides sont aussi associés à la paroi des mycobactéries et peuvent être extraits par des solvants organiques, : les cires D, le cord-factor et les mycosides. Chacun a un grand intérêt biologique.

- Les Cires- D.

L'extraction des lipides bactériens par un mélange d'alcool et d'éther, puis par le chloroforme donne des fractions cireuses A, B, C, D. Les souches virulentes de mycobactéries contiennent 6 à 8 % de cires D. contre 2 % pour les souches avirulentes ou saprophytes (43). Les cires D, qui peuvent remplacer les mycobactéries entières dans l'adjuvant de Freund, seraient pour Lederer des « morceaux de paroi découpés par les enzymes ».

- Le Cord-factor (H. Bloch)

C'est un dimycolate de tréhalose. Le tréhalose est un disaccharide non réducteur formé de 2 molécules de D.glucose, chacune étant dans le cord-factor estérifiée par une molécule d'acide mycolique.

Le Cord-factor est extrait des souches virulentes de mycobactéries qui ont la propriété de former des cordes en milieu liquide. Malgré sa toxicité pour l'animal, il n'entraîne pas le développement d'une immunité antituberculeuse lorsqu'il est injecté seul. Mais en présence d'huile minérale et injecté à la souris à doses faibles (10 à 20 mg), il provoque la formation de granulomes pulmonaires et entraîne le développement d'une immunité locale contre une infection tuberculeuse par aérosol (43). La formation de granulomes conduit également à une stimulation de la production d'anticorps et à une résistance non spécifique contre des tumeurs pulmonaires induites par l'uréthane (43).

- Les mycosides :

Ce sont des glycolipides qui ont en commun un saccharide terminal contenant un rahmose O-méthylé (43). Associés à la paroi des mycobactéries, ils sont spécifiques de certaines souches.

On en connaît 3 types : A, isolé de souches "virulentes" de mycobactéries atypiques (M. kansasii), et de certaines souches de M. tuberculosis de virulences spontanément atténuées pour le cobaye ; B, isolé de M. bovis ; et C, de souches aviaires et de souches saprophytes.

Les mycobactériophages ont pour récepteurs les mycosides C. On peut enfin avec Lederer (42) et Barksdale et Kim (3) concevoir l'agencement des principaux constituants de la paroi de M. tuberculosis de la manière suivante : au-delà de la membrane cytoplasmique, le peptidoglycane forme la structure de base. Ensuite vient le polymère d'arabino-galactane qui rattache le peptidoglycane aux autres acides mycoliques qui sont situés dans la partie la plus externe de la paroi. C'est à ce niveau externe également que sont dispersés les dimycolates de tréhalose. Cette structure complexe explique la particulière résistance aux agents physiques et chimiques ainsi que l'acido-alcool-résistance du bacille tuberculeux (43) .

2.5. Résistances aux Agents Physiques et Chimiques

2.5.1. Résistances aux agents physiques :

M. tuberculosis est très sensible à la chaleur et aux rayons X. Il est détruit à l'autoclave à 120°C pendant 30 mn et par la chaleur sèche du four Pasteur à 175°C pendant 30 mn. Le bacille tuberculeux perd rapidement de sa vitalité sous l'action de la lumière solaire ou des rayons ultra-violet. Il résiste au froid à + 4°C pendant plusieurs années ; il se conserve indéfiniment à - 70°C. Il résiste aussi à la dessiccation.

L'association dessiccation-refroidissement (lyophilisation) est le meilleur moyen de conservation .

2.5.2. Résistance aux agents chimiques :

M. tuberculosis, grâce à sa forte teneur en lipide, est plus résistant que les bactéries usuelles aux désinfectants chimiques. Cette plus grande résistance est utilisée pour sélectionner par diverses techniques de décontamination les bacilles tuberculeux des autres bactéries dans les produits pathologiques contaminés. Dans les crachats et à la température du laboratoire le B.K résiste à une concentration de 4 % de Na OH pendant au moins 5 heures. A 37°C, une quantité élevée de bacilles est tuée si le temps de contact dépasse plus d'une heure. Pendant au moins 30 mn le bacille résiste à l'action de H₂ SO₄ à 15 %, et plus longtemps que les bactéries usuelles aux divers détergents. Cette propriété aussi est utilisée pour traiter les produits pathologiques contaminés.

M. tuberculosis est par contre très sensible à l'alcool, une suspension de bacilles tuberculeux est stérilisée en 5 mn par l'alcool à 90°. Quand on parle d'acido-alcool-résistance du bacille tuberculeux, il ne s'agit donc que de la seule résistance du bacille à la décoloration par l'acide et l'alcool.

2.5.3. Résistance aux agents chimiothérapeutiques.

M. tuberculosis est résistant à la majorité des agents antibactériens usuels : sulfamides, pénicillines, chloramphénicol, chloromycétine, etc..., exceptées la streptomycine, la viomycine et la kanamycine. A l'inverse, certains antibiotiques ne sont actifs que sur le bacille tuberculeux et sur certaines espèces mycobactériennes ; isoniazide, acide para-aminosalicylique, éthionamide, pyrazinamide, thiosemicarbazone.

2.6. Mécanisme de la coloration de Ziehl- Neelsen :

Les acides mycoliques jouent un rôle essentiel dans l'acido-alcool-résistance de M. tuberculosis, mais la brillance conférée aux bacilles par la coloration de Ziehl-Neelsen ne résulte pas de la seule acido-alcool-résistance des acides mycoliques (43). Selon Barksdale et Kim, la coloration de Ziehl-Neelsen aurait un double effet : une quantité importante de fuschine pénétrerait à l'intérieur du corps microbien et serait responsable de la brillance de la coloration ; une quantité moins importante de fuschine formerait des complexes avec les groupements carboxyl libres des acides mycoliques situés à la partie la plus externe de la bactérie

La fuschine serait emprisonnée à l'intérieur du corps microbien grâce aux complexes qui formeraient une barrière hydrophobe.

2.7. Génétique

Plusieurs notions dominent la génétique de M. tuberculosis. En pratique la première et la plus importante est celle des mutants résistants aux antibiotiques. La deuxième est celle des variations génétiques du bacille tuberculeux : variation naturelle et variation provoquée au cours de repiquages successifs. La troisième est l'existence de nombreux bactériophages.

2.7.1. Mutants résistants aux antibiotiques :

Les connaissances actuelles montrent que la résistance de M. tuberculosis aux antibiotiques est la conséquence d'une mutation. Aucun autre mécanisme (transfert de plasmide, transduction etc....) n'a pu être mis en évidence.

- Sélection des mutants résistants in vitro:

On ensemence un nombre élevé de bacilles, par exemple 0,1 à 1mg, sur des milieux de culture solides contenant des concentrations croissantes d'un antibiotique, streptomycine ou isoniazide par exemple. Placés à l'étuve à 37°C, on peut dénombrer, au bout de 21 à 28 jours, les colonies qui se sont développées sur les milieux avec antibiotiques et déterminer ainsi la proportion des mutants résistants.

Le tableau 1 montre que dans les souches sauvages de M. tuberculosis, la proportion de mutants résistants est différente d'un antibiotique à l'autre (43). Par exemple, pour la streptomycine elle est de 40 pour 10^6 , pour l'isoniazide de 5 pour 10^6 et pour la rifamycine de moins de 1 pour 10^6 .

TABLEAU - 1 : (45)

Teneur des souches sauvages de M. tuberculosis en mutants résistants aux principaux antibiotiques (sur milieux de Löwenstein-Jensen, pour 10^6 bacilles).

ANTIBIOTIQUES	CONCENTRATIONS (mg / l)	NOMBRE DE MUTANTS RESISTANTS		
		Minimal	Médian	Maximal
Isoniazide	0,2	0,5	5	41
Streptomycine	4	0,7	40	400
P A S	0,5	0,1	25	100
Rifampicine	40	0	0	280
Ethambutol.....	2	0	0	20
Ethionamide	20	100	1.500	5.000

On peut facilement prévenir la sélection des mutants résistants. Il suffit d'incorporer simultanément dans le milieu de culture 2 antibiotiques. Chacun d'entre eux étant actif sur les mutants résistants à l'autre antibiotique, la sélection des mutants ne peut se produire. Mais pour que cela s'opère comme convenu, il faut que la proportion de mutants résistants à chacun des 2 antibiotiques associés soit normale. Si elle est anormalement élevée, l'association ne pourra prévenir la sélection des mutants résistants.

- La sélection des mutants résistants in vivo:

Dès 1946, date d'introduction de la streptomycine dans le traitement de la tuberculose, sont apparus des mutants résistants à la streptomycine. Youmans montra que les tuberculeux qui crachent encore des bacilles après 2 mois de traitement ont tous des bacilles résistants à la streptomycine.

Pourcentage de résistance
à la Streptomycine.

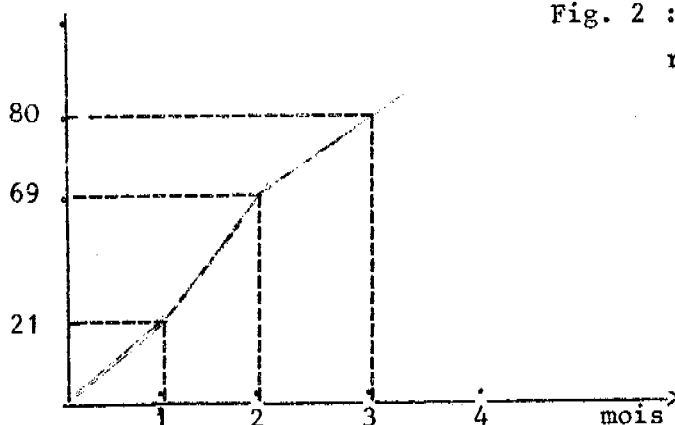


Fig. 2 : Pourcentage cumulé de souches résistantes chez 42 tuberculeux pulmonaires traités par la streptomycine seule (British Medical Research Council, 1948).

En 1948, le British Medical Research Council fit la même constatation (Fig.2) (43).

Comme *in-vitro*, l'administration d'un seul antibiotique entraîne donc la sélection de mutants résistants à cet antibiotique et, par conséquent, l'échec thérapeutique.

- Les caractères des mutants résistants aux antibiotiques.

+ Les mutants résistants à l'isoniazide : La résistance à l'isoniazide s'accompagne souvent d'une modification de l'activité catalasique et de la virulence pour le cobaye (Middelbrook 1953). En réalité on peut distinguer 2 types de mutants résistants à l'isoniazide (43).

• Les mutants qui ne sont résistants qu'à des concentrations faibles d'isoniazide (0,1 à 0,2 μ g/ml) sont résistants à des concentrations fortes d'éthionamide (résistance croisée) et restent sensibles à la thiosemicarbazone (Tb1), ils ont une activité catalasique normale ou faiblement diminuée et une virulence pour le cobaye normale,

• Les mutants qui sont résistants à des concentrations moyennes ou fortes d'isoniazide (1 à 10 μ g/ml), dans ce cas la résistance à l'isoniazide ne s'accompagne pas d'une résistance croisée à l'éthionamide,; ces mutants ont une activité catalasique et une virulence pour le cobaye faibles ou nulles (le peroxyde d'hydrogène, $H_2 O_2$, est toxique pour les souches qui n'ont pas d'activité catalasique).

+ Les mutants résistants à l'éthionamide :

L'administration d'éthionamide seul permet la sélection rapide de ces mutants. Il y a 2 types : ceux qui ont une résistance forte à la thiosemicarbazone (Tb1) ; ceux qui ont une résistance forte à l'éthionamide, qui restent sensibles au Tb1 mais qui ont une résistance croisée à de faibles concentrations d'isoniazide.

+ Les mutants résistants aux autres antibiotiques :

Les mutants résistants aux aminosides et apparentés à la rifampicine, à la cyclosérine, à l'acide para-amino-salicylique (PAS) ont des propriétés enzymatiques et une virulence semblables à celles des bacilles sensibles.

2.7.2. - Variations génétiques de M. tuberculosis

+ Variations géographiques : Selon leur provenance géographique, les souches de M. tuberculosis ont des caractères culturels, biochimiques et de virulences variables.

+ Variations induites : Les repiquages successifs sur milieux artificiels peuvent induire des variations des caractères de M. tuberculosis. Un exemple historique est le cas du B C G, il y a eu des variations induites par repiquages successifs de M. bovis. La sélection de mutants résistants aux antibiotiques peut aussi s'accompagner de modifications de caractères de M. tuberculosis (43).

2.7.3. Bactérioph

C'est en 1947 que le premier bactériophage actif a été isolé. Depuis de nombreux bactériophages, appelés mycobactériophages, se sont montrés actifs sur les Mycobactéries en général et sur M. tuberculosis en particulier. On dispose actuellement de 12 bactériophages permettant une certaine lysotypie des souches de M. tuberculosis. Une méthode standardisée d'entretien des bactériophages et de lysotypie a été mise au point sous l'égide de l'Organisation Mondiale de la Santé (41).

3. - PHYSIOPATHOLOGIE

3.1. Pouvoir pathogène naturel :

Les lésions tuberculeuses sont généralement de structure variée en raison de la complexité chimique du bacille, de sa lenteur de croissance, de ses exigences métaboliques et de l'intensité des phénomènes d'hypersensibilité qui ont lieu dans l'organe infecté.

Plus spécialement, elles le sont dans la tuberculose pulmonaire qui est la plus fréquente et la plus connue des localisations tuberculeuses.

Le début en est l'arrivée, presque toujours par inhalation de quelques bacilles dans une alvéole pulmonaire. Les macrophages captent aussitôt les bacilles. L'évolution de l'infection tuberculeuse dépend de leur multiplication à l'intérieur des macrophages. Si elle est importante elle évoluera vers la maladie, sinon elle restera latente.

3.2. Pouvoir pathogène expérimental :

- La plupart des animaux de laboratoire sont réceptifs à l'inoculation de M. tuberculosis. Mais le cobaye est l'animal de choix. Même avec un très faible nombre de bacilles tuberculeux, et quelle que soit la voie d'inoculation, le cobaye fait une tuberculose généralisée, mortelle. Mais la régularité et la rapidité de l'évolution sont fonction du nombre de bacilles inoculés et de la voie d'inoculation.

.../...

Classiquement, l'inoculation est effectuée par injection sous-cutanée de 0,01 mg de bacilles tuberculeux. Deux ou trois semaines plus tard, on voit apparaître et se fistuliser au point d'inoculation, un abcès caséux dit chancre d'inoculation, qui va persister jusqu'à la mort de l'animal. Simultanément alors que l'hypersensibilité tuberculinique s'installe, les relais ganglionnaires du territoire lymphatique afférent augmentent de volume et se caséifient. La caséification atteint les ganglions inguinaux internes et externes, les ganglions lombo-aortiques et sous-hépatiques. La rate est le siège des lésions les plus caractéristiques ; augmentation de volume parfois considérable tandis que sa surface se bossèle de nodules caséux.

Les lésions hépatiques sont plus discrètes : surface ravinée, rares et toujours discrets foyers de nécrose. Les lésions thoraciques sont de 2 ordres : les ganglions trachéo-bronchiques sont volumineux et les poumons sont parsemés de foyers grisâtres, translucides, souvent minuscules (taille d'une tête d'épingle), d'autres fois plus importants de 2 à 3 mm de diamètre.

L'animal meurt en 6 semaines à 3 mois.

Cette évolution typique est facilement reproduite avec la plupart des souches de M. tuberculosis fraîchement isolées, à l'exception des souches provenant du lapin qui ont habituellement une virulence expérimentale diminuée ou nulle (23).

Elle ne l'est plus du tout avec les souches résistant à des concentrations d'isoniazide égales en supérieures à 10 μ g/ml. Dans ce cas l'inoculation du cobaye n'est suivie d'aucune maladie ou seulement d'une maladie spontanément régressive.

- Si on inocule par voie intraveineuse 0,01 mg de M. tuberculosis au lapin, il y a une tuberculose granuleuse spontanément régressive. Le B.K est donc non pathogène pour le lapin. Ce qui permet de le différencier d'avec le bacille tuberculeux bovin.

- La poule est réfractaire à l'inoculation de M. tuberculosis

- La souris est peu sensible à M. tuberculosis. Mais inoculée par voie veineuse avec 10⁶ bacilles d'une souche entraînée, elle fait une tuberculose généralisée, granuleuse, mortelle en 28 jours (F. Grumbach et N. Rist). L'inoculation d'un nombre plus faible de bacilles, provoque chez la souris une tuberculose chronique, qui n'est pas spontanément régressive. Pour cette raison, la souris est le modèle expérimental le plus couramment utilisé en chimiothérapie expérimentale de la tuberculose.

- Le singe fait une tuberculose aiguë, avec lésions excavées, rapidement mortelle
- Les bovins ne sont pas réceptifs à M. tuberculosis. Il n'y a donc pas, sauf exception de tuberculose bovine due au bacille tuberculeux.

4. TRANSMISSION

Chez l'homme, les deux sources de bacilles sont d'inégale importance, le contagage humain est plus fréquemment responsable de l'infection tuberculeuse chez l'homme que le contagage animal. Les malades porteurs de lésions pulmonaires bacillifères jouent en effet, un rôle essentiel dans la dissémination de la maladie(54). La transmission a généralement lieu à la suite de l'inhalation par d'autres sujets, de fines gouttelettes de mucus contenant des bacilles (Pflügge). Ces gouttelettes sont rejetées par le malade à l'occasion de toux, d'éternuement et de parole.

Elles se dessèchent immédiatement. Les bacilles qui forment les noyaux de ces gouttelettes les << droplet nuclei >> de Wells, restent en suspension dans l'air et peuvent être inhalés par d'autres sujets. La voie de transmission du bacille tuberculeux est donc principalement aérienne.

Toutes les autres voies de pénétration, notamment la voie digestive, peuvent être empruntées par le bacille mais elles sont exceptionnelles.

La contamination s'effectue soit dans le milieu familial, soit en dehors, et certaines professions (étudiants en médecine, infirmières etc...) constituent des groupes à haut risque, et sont particulièrement exposées (54).

Le contagage peut se faire soit à l'occasion d'un contact épisodique avec un sujet aux lésions très riches en bacilles, soit lors des contacts répétés avec un sujet moins infecté.

Les lésions tuberculeuses autres que pulmonaires sont sources de contamination dans la mesure où elles sont ouvertes.

Les tuberculoses ganglionnaires et ostéo articulaires fistulisées, rénales, etc... peuvent à l'occasion être contagieuses. Leur rôle épidémiologique est toujours accessoire. Il en est de même pour le contagage animal représenté par certains animaux domestiques, les chats ou les chiens notamment, peuvent être infectés et propager la maladie par contagage direct.

5. CARACTERES IMMUNOLOGIQUES.

Le bacille tuberculeux induit chez l'hôte infecté une allergie et une immunité spécifique dont le support expérimental décrit par Robert Koch en 1891 est connu sous le nom de phénomène de Koch.

5.1. Phénomène de Koch (1891)

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

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

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

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

5.2. Allergie tuberculique ou hypersensibilité tuberculique

Bien que le terme d'allergie ait été créé par Von Pirquet en 1906 pour définir « tout changement de réactivité engendré dans l'organisme par un contact avec des substances inanimées ou des éléments vivants », il a été vite réservé aux seuls cas où la réaction était accrue c'est à dire où il y avait hypersensibilité. Actuellement les deux termes allergie et hypersensibilité sont des synonymes.

I. 5.3. Adjuvant de Freund (1937)

Un animal auquel on injecte une substance protéique, réagit par la production d'anticorps circulants. On a à faire à une hypersensibilité de nature humorale

et immédiate. Mais l'injection de la même substance mélangée à de l'adjuvant de Freund (suspension de bacilles tuberculeux tués, enrobés dans une huile minérale) provoque l'apparition d'hypersensibilité vers le type retardé (43). Des travaux avaient d'abord établi la responsabilité des cires D dans le caractère retardé de l'hypersensibilité, puis on a montré qu'à l'intérieur des cires D, le peptidoglycane des Mycobactéries jouait un rôle essentiel.

Des travaux effectués par Lederer et Chedid en 1974 ont permis de caractériser l'unité active du peptidoglycane et même de l'obtenir par synthèse. Il s'agit du N-acétyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine ou muramyl-dipeptide (M D P) (43). Il augmente la réponse humorale et permet de créer un état d'hypersensibilité retardée lorsqu'il est administré avec un antigène au sein d'une émulsion d'eau dans l'huile.

5.4. Caractère de l'hypersensibilité tuberculinique.

Lorsque l'hypersensibilité est de nature humorale elle se produit en quelques mn. Cela n'est pas le cas au cours du phénomène de Koch où la réaction cutanée d'hypersensibilité n'apparaît que 24 ou 48 heures après la ré-inoculation des bacilles tuberculeux.

On peut transmettre l'hypersensibilité tuberculinique d'un sujet hypersensibilisé à un autre, en lui injectant des macrophages et des lymphocytes, mais pas par l'injection de sérum. Au cours de l'infection tuberculeuse humaine, on a constaté que les réactions cutanées d'hypersensibilité tuberculinique sont plus intenses en cas de multiplication active qu'en cas de latence bacillaire.

Le résultat de l'hypersensibilité tuberculinique est la caséification des lésions tuberculeuses.

Parmi les espèces animales, celles qui s'hypersensibilisent le plus sont celles qui font les plus importantes lésions caséuses (singe, bovidés, cobaye) (43).

Pour révéler l'hypersensibilité tuberculinique il suffit d'injecter la tuberculine.

5.5. La tuberculine

C'est un filtrat concentré à chaud de bouillon dans lequel des bacilles tuberculeux ont été cultivés pendant 6 semaines. La première tuberculine a été préparée en 1890 par Koch selon le procédé suivant: des bacilles tuberculeux cultivés pendant 6 à 8 semaines sur bouillon glycérimé sont d'abord inactivés par chauffage à 100°C.

Ensuite par évaporation au bain-marie bouillant le bouillon est concentré puis filtré. Le filtrat qui est un liquide **siropeux** brunâtre est la tuberculine brute qui titre 100.000 Unités Internationales (U.I) par millilitre (43).

Les protéines sont dénaturées par l'effet de la chaleur et perdent ainsi leur pouvoir sensibilisant.

Une bonne tuberculine est ainsi capable de révéler l'hypersensibilité, mais incapable de l'engendrer ou même d'entraîner la formation d'anticorps circulants donnant une hypersensibilité de type immédiat (43).

A partir de la tuberculine brute, des tuberculines purifiées ou P P D (Purified Protein Derivatives) ont été préparées afin d'augmenter sa spécificité. L'une des plus connues est la tuberculine danoise R T ₂₃, qui sert de référence dans les enquêtes internationales.

Pour rechercher l'hypersensibilité tuberculinique chez l'homme la seule méthode recommandée par l'O.M.S. est l'intradermo-réaction de Mantoux ; elle seule assure la pénétration dans le derme d'une quantité constante de tuberculine et permet une appréciation quantitative des résultats.

Elle consiste à injecter 0,1 ml de tuberculine purifiée par voie intradermique et à mesurer 72 h plus tard le diamètre de l'induration réactionnelle.

5.6. Immunité antituberculeuse.

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

- Caractère de l'immunité antituberculeuse :

Après inoculation tuberculeuse, l'immunité peut avoir lieu en même temps ou un peu plus tard que l'hypersensibilité. Mais elle persiste même après la disparition de celle-ci. Bien qu'exerçant principalement ses effets sur les bacilles de surinfection, elle s'exerce aussi sur les bacilles de la primo-infection et du caractère latent de la majorité des infections tuberculeuses spontanées (43). Cependant, c'est une immunité imparfaite. Tous les bacilles de réinfection ne sont pas détruits chez le cobaye.

Chez l'homme, l'immunité n'empêche pas l'apparition de la maladie tuberculeuse chez certains sujets infectés. Le bacille de Calmette et Guérin (B.C.G.) est à l'heure actuelle le vaccin vivant le plus immunisant et en même temps le moins pathogène dont on dispose pour créer l'état d'immunité de surinfection (43).

B. -- MYCOBACTERIUM BOVIS

Il est encore appelé bacille tuberculeux bovin.

1. H A B I T A T

M. bovis est l'agent de la tuberculose bovine. Celle-ci est transmissible à l'homme et certaines espèces animales notamment le chat, le chien et la chèvre. Strictement parasite des bovins et éventuellement de l'homme et de quelques animaux. M. bovis n'est trouvé dans l'environnement que s'il a été contaminé par les produits animaux ou humains (28).

2. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

2.1. Morphologie :

M. bovis est habituellement plus court et plus trapu et se colore plus faiblement par le Ziehl-Neelsen que M. tuberculosis. Dans les cultures âgées on note fréquemment deux granulations subpolaires rouge foncé.

2.2. Culture :

La culture de M. bovis est extrêmement lente. Les colonies n'apparaissent qu'après 4 ou 5 semaines. ELLES sont typiques sur milieu de Löwenstein-Jensen. Elles sont non pigmentées, lisses, extrêmement dysgoniques : d'abord plates, elles deviennent ensuite bombées, brillantes mais ne dépassent pas la taille d'une tête d'épingle. Contrairement aux colonies de M. tuberculosis, elles se dissocient bien dans l'eau.

La glycérine à une concentration de 4 % inhibe complètement la croissance de M. bovis. A la concentration de 0,75 % qui est celle du milieu de Löwenstein-Jensen, l'action nuisible de la glycérine est pratiquement nulle. A l'inverse de la glycérine, le pyruvate à la concentration de 0,3 à 0,5 % stimule la croissance de M. bovis (Boissevain 1943). Les colonies apparaissent alors plus grosses, hémisphériques.

A cause de l'effet de ces 2 substances, Stonebrink a proposé en 1952, pour faciliter l'isolement de M. bovis, un milieu à l'oeuf sans glycérine ni acides aminés, mais additionné de pyruvate. Il faut noter que le pyruvate inhibe l'action de l'isoniazide, de la cyclosérine et de l'acide thiophène-2-carboxylique et diminue l'activité de la kanamycine et de l'éthambutol, il potentialise au contraire celle de l'éthionamide (6).

2.3. Caractères biochimiques :

M. bovis a une activité catalasique plus faible que celle de M. tuberculosis. Il ne produit pas de niacine et ne réduit pas les nitrates en nitrites. Il est sensible à l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique et résistant au pyrazinamide.

M. bovis est un micro-aérophile et pousse à 15 mm de la surface en gélose en culot de Lébeck. Enfin parmi les amidases il ne possède qu'une uréase alors que M. tuberculosis possède une uréase, une nicotinamidase et une pyrazinamidase (7).

2.4. Génétique B.C.G. :

Parfois à la suite de repiquages successifs, l'aspect dysgonique des colonies de M. bovis se modifie. A la surface d'une colonie lisse va apparaître une petite colonie satellite d'aspect rugueux. Cette mutation connue sous le nom de dissociation, entraîne la formation d'une colonie qui a la morphologie de M. tuberculosis. Le repiquage de cette colonie va donner naissance à une souche eugonique qui garde les caractères biochimiques et de virulence de M. bovis. Souvent on constate que cette nouvelle souche est avirulente pour le cobaye et le lapin.

C'est par une pareille mutation qu'est né le B.C.G.. Le B.C.G. provient d'une souche de M. bovis isolé par Nocard d'une mammite de bovidés avant 1900. En 1908, Calmette et Guérin la repiquent dans l'espoir d'obtenir une bonne dispersion des bacilles et pratiquer des expériences d'inoculation chez les bovidés. La virulence initiale de la souche s'est atténuée vraisemblablement par sélection d'un mutant avirulent.

Après 30 repiquages, elle était avirulente pour le veau. En 1920, après 230 passages sur pomme de terre biliée glycinée, elle était avirulente pour tous les animaux. A partir de 1921, elle fut utilisée pour la vaccination humaine contre la tuberculose (29)

Bactériologiquement le B.C.G. est une mycobactérie ayant les mêmes caractères biochimiques que M. bovis, mais qui est avirulent pour le cobaye même à forte dose. Mais le B.C.G. a deux caractères supplémentaires que ne possède pas M. bovis typique ; il est résistant à la cyclosérine et à la thiosemicarbazone (T b 1) tout en étant sensible aux autres antibiotiques antituberculeux (43).

En pratique ces caractères seuls permettent l'identification du B.C.G. (M. bovis variété B.C.G.). Il n'est pas nécessaire de vérifier l'avirulence pour le cobaye sauf si l'on soupçonne un mélange avec M. tuberculosis (dans un pus d'abcès ou d'adénopathie par exemple).

3. PHYSIOPATHOLOGIE

3.1. Pouvoir pathogène naturel :

Chez les bovins, M. bovis provoque des lésions pulmonaires pleurales, ganglionnaires et aussi mammaires d'où la contamination du lait. Par consommation de produits laitiers crus contaminés, l'homme s'infecte, ce qui détermine des tuberculoses digestives ou ganglionnaires cervicales.

3.2. Pouvoir pathogène expérimental :

M. bovis est le plus virulent des bacilles tuberculeux. Pour Bocquet, c'était le << maître bacille >>. Bien que le cobaye et la souris soient très sensibles au bacille bovin, c'est le lapin qui reste l'animal de choix pour l'étude de la virulence. Infecté par voie veineuse à la dose de 0,01mg, le lapin fait en 1 à 2 mois une tuberculose mortelle avec des lésions pulmonaires massives et granulations disséminées sur la rate et le rein.

4. TRANSMISSION

Les bovins atteints de tuberculose sont la source principale de M. bovis. La contamination animale se fait par voie aérienne et par voie digestive. Avant tout l'homme s'infecte par le lait consommé cru ou le beurre contaminés par M. bovis. La contamination par voie pulmonaire est possible par contact direct avec les bovins malades. L'homme atteint de tuberculose pulmonaire à M. bovis, est également source d'infection pour d'autres sujets éventuellement pour les bovidés.

C.- MYCOBACTERIUM AFRICANUM

Il est décrit par Castets, Boisverts et collaborateurs en 1969. Il est encore appelé bacille tuberculeux africain.

1. Historique :

En 1966, lors d'une enquête épidémiologique organisée par l'Union Internationale contre la Tuberculose, Castets a isolé systématiquement les souches de bacilles tuberculeux chez les malades participant à l'enquête, près de la moitié d'entre elles avaient des caractères intermédiaires entre ceux de M. tuberculosis et de M. bovis. Le bacille responsable, désigné comme bacille tuberculeux du type africain a été élevé au rang d'espèce sous le nom de M. africanum (14).

2. Habitat :

Comme M. tuberculosis, M. africanum est un parasite strict de l'homme en Afrique Occidentale et Centrale.

3. Caractères bactériologiques :

M. africanum a les mêmes caractères microscopiques que M. tuberculosis

3.1. Culture :

La culture de M. africanum est lente et son caractère le plus net est sa dysgonie. Sur milieu de Löwenstein-Jensen, les colonies n'apparaissent qu'au bout de 4 à 8 semaines parfois plus tardivement, malgré la présence à l'examen de nombreux B.A.A.R., la culture ne donne souvent naissance qu'à un nombre limité de colonies. Elles sont très petites comme celles de M. bovis, mais plates avec un petit bourgeon central, elles ont une surface rugueuse et une teinte mate comme celle de M. tuberculosis. Elles s'enlèvent difficilement du milieu de culture dans lequel elles enfoncent de longs prolongements et se dissocient mal dans l'eau.

Enfin, le pyruvate stimule fortement leur croissance, il y aura un nombre plus élevé de colonies sur le milieu qui apparaissent plus rapidement et sont eugoniques rugueuses comme celles de M. tuberculosis

3.2. Caractères biochimiques :

M. africanum a une activité catalasique thermolabile, qui devient faible ou nulle en cas de résistance à l'isoniazide.

Comme M. bovis, il est microaérophile et ne réduit pas les nitrates en nitrites, produit peu de niacine et est sensible à l'acide thiophène-2-carboxylique (T C H). Comme M. tuberculosis, il est sensible au pyrazinamide et désintègre urée, nicotinamide et pyrazinamide.

4. Pouvoir pathogène expérimental :

M. africanum est pathogène pour le cobaye, mais non pathogène pour le lapin comme M. tuberculosis.

5. Différents types de M. africanum :

Les caractères de toutes les souches de M. africanum isolées sont variables, notamment en fonction de l'origine géographique des malades. Ainsi, on a pu distinguer plusieurs types de M. africanum.

- Le type Dakar, isolé chez 25 à 40 % des tuberculeux du Sénégal du Mali et de la Mauritanie, a les caractères qui ont été décrits précédemment par M. africanum. Toutefois certaines souches de ce type produisent de la niacine en quantité suffisante pour donner une réaction faiblement positive après 42 jours de culture et la majorité d'entre elles en produisent assez pour donner une réaction franchement positive après 52 jours d'étuve (31).

- Le type Yaoundé, isolé chez 60 à 80 % des tuberculeux du Sud du Cameroun et du Gabon, est proche du type Dakar. La différence réside dans la réaction de la nitrate réductase qui est négative par la technique de Virtanen (bacilles en suspension dans une solution tamponnée nitraté) et positive par la technique de Tacquet (bacilles cultivés en présence de nitrates) alors qu'avec le type Dakar elle est négative par l'une et par l'autre technique. Il s'en distingue aussi par la résistance à la thiosemicarbazone présente dans 90 % des cas. Certaines souches enfin donnent après répiquages successifs des colonies eugoniques, nitrate-réductase positive par les 2 techniques mais sensibles au T C H, donc intermédiaires entre M. bovis et M. tuberculosis (34).

- Le type Rwanda isolé chez 90 % des tuberculeux de ce pays, possède comme les deux précédents 3 caractères cultureux qui le rapprochent de M. bovis : dysgonie des colonies sur milieu de Löwenstein-Jensen, micro-aérophilie et action stimulante du pyruvate. Par contre il a les mêmes caractères biochimiques que ceux de

M. tuberculosis : production abondante de niacine, nitrate-réductase positive par la technique de Tacquet, résistance au T.C.H et sensibilité à la thiosemicarbazone.

• Rwanda I dont la réaction de la nitrate-réductase est négative par la technique de Tacquet,

• Rwanda II dont la réaction de la nitrate-réductase est positive pour l'une et l'autre technique (16).

Aucun type africain n'a été trouvé jusqu'ici ni en Asie, ni en Amérique (78).

T A B L E A U - 2 : Principaux caractères différentiels de M. tuberculosis,
M. africanum et M. bovis. (43).

C A R A C T E R E S	M. TUBERCULOSIS	M. AFRICANUM	M. BOVIS	B. C. G.
(Aspect des colonies sur milieu de Löwenstein-Jensen	eugoniques rugueuses en chou-fleur crème-beige	dysgoniques rugueuses plates mates	dysgoniques lisses hémisphériques blanches	eugoniques rugueuses en chou-fleur crème-beige
(Culture en présence de 0,5% de pyruvate	indifférente	stimulée	stimulée	indifférente
(Type respiratoire (Lebeck)	aérobie	micro-aérophile	micro-aérophile	aérobie
(Niacine	+	0 à +	0	0
(Réduction des nitrates	+	0 à +	0	0
(T C H (souche INH-S)*	R *	S	S	S
(Pyrazinamide	S *	S	R	S
(Thiosemicarbazone (Tb1)....	S	S & R	S	R
(Cyclosérine	S	S	S	R
(Virulence pour le cobaye ..	+	+	+	0
(Virulence pour le lapin...	0	0	+	0

* S (sensible)

* R (résistant)

* INHS (Isoniazide sensible)

.../...

D. - MYCOBACTÉRIES ATYPIQUES

Les espèces regroupées sous le terme de Mycobactéries atypiques sont soit uniquement saprophytes soit occasionnellement pathogènes (27). Certaines d'entre elles peuvent provoquer des maladies humaines souvent très proches cliniquement de la tuberculose, les mycobactérioses.

Les Mycobactéries atypiques se différencient des Mycobactéries "tuberculeuses" par leurs caractères cultureux, biochimiques et antigéniques, ainsi que par leur absence de pouvoir pathogène pour le cobaye. D'une manière générale les colonies sont souvent pigmentées et peuvent se développer à 22°C. Comme caractères biochimiques elles ont une activité catalasique thermostable. Elles sont résistantes à l'acide para-amino-salicylique et à d'autres antibiotiques antituberculeux ainsi qu'à l'acide thiophène-2-carboxylique.

Runyon a classé les mycobactéries atypiques en 4 groupes selon leurs caractères cultureux c'est à dire la rapidité de croissance et la pigmentation. Bien qu'empirique, cette classification garde aujourd'hui encore une valeur d'approche.

1. Groupe I : Mycobactéries photochromogènes

Dans ce groupe les colonies ne sont pigmentées qu'après exposition à la lumière. Il n'y a que deux espèces.

1.1. Mycobactérium kansasii : décrit par Hauduroy en 1955, il est encore appelé Yellow bacillus (Buhler et Pollak, 1953), ou encore M. luciflavum (Middlebrook).

Il est responsable d'infections pulmonaires chez l'homme, et est très rarement isolé chez l'animal ou du milieu extérieur. Il a cependant été retrouvé dans la robinetterie de laboratoire et dans des canalisations d'eau urbaine .

1.2. Mycobactérium marinum : encore appelé M. platypoecilus (Baker et Hagan, 1942) ou M. balnei (Naden et Linell, 1954), il se trouve chez les animaux à sang froid, particulièrement chez les poissons exotiques en aquarium, dans les piscines et le littoral des mers chaudes. Il est responsable chez l'homme de granulomes cutanés qui évoluent vers la guérison spontanée en plusieurs mois.

.../...

Ces 2 espèces se distinguent par leurs caractères cultureux : culture lente à 37°c pour M. kansasii, culture rapide (1 semaine) à 30°c pour M. balnei qui à l'isolement ne cultive pas à 37°c.

2. Groupe II : Scotochromogènes

Les espèces de ce groupe sont d'emblée colorées en orange vif, même si les tubes de culture sont laissés à l'obscurité. Les colonies sont le plus souvent lisses et apparaissent en 7 à 30 jours.

2.1. M. gordonae : encore appelé << orange bacillus >> M. aquae bacillus << tap water >> est le classique bacille du robinet et un des contaminants de laboratoire les plus répandus. C'est également la mycobactérie saprophyte la plus répandue dans la nature. Les colonies apparaissent en 7 à 10 jours et à 30°C.

2.2. M. scrofulaceum : encore appelé M. marianum est rangé dans le complexe M. avium-intracellulare-scrofulaceum ou M.A.I.S. (Runyon 1974). Il se rencontre rarement dans la nature et chez les animaux, en dehors des produits pathologiques d'origine humaine. Il est classiquement isolé d'adénites froides, cervicales ou faciales. Les colonies n'apparaissent qu'après 3 semaines. Leur croissance est favorisée par le pyruvate.

2.3. M. szulgai : Cette mycobactérie a été décrite en 1972 par Marks, Jenkins et Tsakamura. Elle est considérée comme pathogène pour l'homme. Elle a la même morphologie que M. gordonae mais elle s'en différencie par la chromatographie des lipides et plus pratiquement par la réduction des nitrates et l'hydrolyse très tardive du tween 80.

2.4. M. flavescens : décrit par Bojalil et ses collaborateurs en 1962, il est encore appelé M. acapulcensis. C'est un saprophyte assez fréquent dans l'environnement et au laboratoire. Les colonies sont eugoniques, rugueuses, jaune brillant et sont souvent entourées sur milieu de Löwenstein-Jensen d'une zone irrisée due à l'attaque des lipides du milieu.

3. Groupe III : non chromogènes :

En principe, les espèces de ce groupe ne sont pas pigmentées en culture jeune, avec l'âge et la lumière, certaines souches se pigmentent en beige, jaune, jaune-orangé ou rose (47).

3.1. M. avium : ou bacille tuberculeux aviaire ou M. tuberculosis variété avium, il est responsable de la tuberculose aviaire.

3.2. M. intracellulare : ou Nocardia intracellulare, ou Bacille Battey : M. batteyi, ou M. brunense.

M. avium et M. intracellulare sont 2 espèces très voisines. Elles ont été isolées d'une très grande variété de lésions : affections pulmonaires, adénites froides, infections généralisées qui sont habituellement mortelles. Le pronostic des affections pulmonaires à M. avium est grave car ces germes sont résistants à presque tous les antibiotiques connus à ce jour.

Sur milieu de Löwenstein-Jensen les colonies de M. avium apparaissent en 3 semaines et celle de M. intracellulare en 2 semaines à 37°C. Les colonies se dissocient, elles sont grandes, régulières en dôme aplati, lisses et petites, un peu plus irrégulières qui peuvent en imposer pour un mélange de Mycobactéries.

3.3. M. xenopi : ou M. xenop ou M. littorale, est isolée de produits pathologiques provenant de sujets indemne de toutes infections. Il est rencontré parfois dans le milieu extérieur ainsi que dans les systèmes de distribution d'eau.

Malgré ses colonies scotochromogènes, il est classé dans le groupe III, en raison de nombreuses analogies avec les Mycobactéries aviaires. Le plus souvent il est responsable chez l'homme d'infections pulmonaires simulant la tuberculose.

3.4. M. du complexe << radish >> sont des saprophytes assez répandus, exceptionnellement ils sont signalés comme pathogènes pour l'homme et pour les animaux. Ils peuvent être confondus avec les bacilles aviaires ou même avec M. tuberculosis.

3.5. M. gastri : assez rarement isolé, M. gastri ressemble beaucoup à la variété album de M. Kansasii à quelques différences près. Pour cette raison, certains auteurs la placent dans le groupe I (43).

3.6. M. non chromogenicum : Les bacilles n'ont pas de morphologie particulière sur milieu de Löwenstein-Jensen les colonies apparaissent plus rapidement que celles de M. intracellulare.

3.7. M. terrae : ou M. novum, ressemble à M. non chromogenicum mais ne cultive pas à 40°C, et réduit les nitrates.

3.8. M. triviale : Les colonies rugueuses peuvent en imposer pour M. tuberculosis.

3.9. Hors groupe . On peut rattacher au groupe III, 4 espèces bien individualisées, pathogènes pour l'homme ou les animaux.

- M. paratuberculosis : ou bacille de Johne, M. Johnei. Il est l'agent de l'entérite hypertrophiante des bovidés et des ovidés.

- M. ulcerans : ou M. buruli. C'est l'agent de l'ulcère cutané des pays tropicaux (61).

- M. lepraemurium : ou bacille de Stefansky. Il est l'agent de la lèpre du rat.

- Espèces encore à l'étude.

- M. simiae : ou M. habana : isolé jusqu'ici chez l'homme et le singe.

- M. asiaticum : isolé du singe, sur milieu de Löwenstein-Jensen il donne des colonies ressemblant à celles de M. avium pigmenté.

- M. malmoense

- M. haemophilum

4. Groupe IV : A croissance rapide.

Les Mycobactéries du groupe IV correspondent aux bacilles paratuberculeux de 1901. La culture est visible en 3 à 5 jours sur milieux usuels.

4.1. Espèces non pigmentées.

- M. fortuitum : ou M. ranae, ou M. minetti, ou M. peregrinum se retrouve fréquemment dans l'environnement et les animaux à sang froid. Il est un commensal habituel de l'homme chez lequel il se comporte comme un opportuniste mineur.

- M. chelonei : ou M. borstelense, ou M. runyonii. Il a le même habitat que M. fortuitum. Il a été utilisé sous le nom de vaccin de Friedmann dans le traitement de la tuberculose humaine. Il est encore employé en médecine vétérinaire comme stimulant de l'immunité (43).

- M. chitae : isolé du sol et d'expectorations.

- M. sénégalense : ou Nocardia farcinica. Il est l'agent du farcin du boeuf au Sénégal.

4.2. Espèces pigmentées.

Toutes sont des saprophytes que l'on rencontre de temps en temps au laboratoire médical.

- M. vaccae : isolé des abreuvoirs des bovidés, il est peu résistant aux antibiotiques.

- M. aurum : Sous ce nom on a rassemblé plusieurs espèces très voisines : M. parafortuitum, M. néoaurum et M. gadium qui sont proches de M. vaccae. Du fait de leur sensibilité aux antibiotiques antituberculeux et de leur rapidité de culture, certaines sont utilisées pour le dosage microbiologique des antibiotiques (43).

4.3. Espèces thermophiles.

Ce sont également tous des saprophytes.

- M. phlei : Il est utilisé sous forme d'extrait pour la culture de M. paratuberculosis.

- M. thermoresistibile. Il est proche de M. phlei.

- M. smegmatis : ou M. butyricum ou M. lacticola, ou M. fribrugensis. Il est très utilisé pour les études bactériologiques et comme stimulant non spécifique de l'immunité en cancérologie.

5. Pouvoir pathogène naturel.

Les mycobactérioses ne se différencient ni par la clinique, ni par la radiologie ou l'anatomopathologie des tuberculoses à M. tuberculosis ou M. bovis.

IV.- 5.1. Les mycobactérioses pulmonaires.

Ce sont habituellement les hommes âgés de plus de 40 ans qui sont sujets aux mycobactérioses pulmonaires. Différents auteurs ont montré le rôle favorisant de diverses affections bronchopulmonaires, notamment des pneumoconioses (49).

L'évolution des mycobactérioses ne présente pas de différence nette avec celle de la tuberculose, bien qu'elle soit plus torpide. Les germes en cause sont : M. avium - intracellulare, M. xenopi, M. kansasii, très rarement M. fortuitum et M. chelonei.

5.2. Les mycobactérioses ganglionnaires.

Ce sont les enfants au dessous de 8 ans qui sont affectés par ces infections. L'évolution est généralement bénigne, sans autre séquelle parfois qu'une cicatrice de fistulisation. Le tout premier agent de ces adénites est M. scrofulaceum.

5.3. Les autres mycobactérioses (49).

Les abcès localisés secondaires à des injections médicamenteuses sont surtout le fait de M. fortuitum et M. chelonei, comme le sont certaines infections ostéo-articulaires consécutives à des interventions chirurgicales. Les infections cutanées sont dues dans les pays tempérés à M. marinum et dans les pays tropicaux à M. ulcérans.

Les lésions osseuses primitives, certaines infections viscérales et les infections généralisées sont dues le plus souvent à M. avium intracellulare - scrofulaceum, plus rarement à M. kansasii, M. szulgai, M. xenopi et M. fortuitum.

E. - LA PANDÉMIE DE LA TUBERCULOSE (50)

On estime que 30 à 60% des adultes dans les pays en voie de développement sont infectés par M. tuberculosis. Environ 8 à 10 millions d'individus sont atteints de la tuberculose clinique et 3 millions meurent chaque année de tuberculose.

Le taux de létalité, en l'absence de traitement est de plus de 60 % en l'espace de 5 ans. Avec un diagnostic rapide et une chimiothérapie adéquate, il peut être ramené à 3 % ou moins encore.

Les méthodes de lutte contre la tuberculose sont notamment le dépistage et la chimiothérapie, la vaccination au B.C.G. (Bacille de Calmette et Guérin) des personnes non encore infectées et le traitement préventif des individus infectés à haut risque d'évolution vers une tuberculose clinique.

La stratégie la plus utilisée dans les pays en voie de développement consiste à entreprendre le dépistage, par examen direct de frottis des crachats des individus présentant des symptômes qui font penser à la tuberculose, et à prescrire une chimiothérapie ambulatoire.

Le risque d'infection diminue actuellement de plus de 10 % par an dans les pays industrialisés de 5 à 10 % dans certains pays en développement où il existe de bons programmes de lutte antituberculeuse et des services généraux de santé structurés, et de 0 à 4 % dans les autres pays en développement.

Mais en dépit de l'existence d'un traitement et d'un vaccin, la situation mondiale s'améliore très peu dans l'ensemble car les stratégies existantes ne sont ^{pas} appliquées avec suffisamment d'efficacité et il est encore nécessaire de les améliorer.

La morbidité tuberculeuse (26) est mal connue. Le pourcentage des tuberculoses dépistées par enquête radiophotographique serait de l'ordre de 1 % en Afrique noire et en Inde, alors qu'il ne dépasse pas 0,2 % en France.

La prévalence des tuberculoses << bactériologiques >>, c'est-à-dire contagieuses, est d'après l'O.M.S., comprise entre 0,5 et 1 % en zone tropicale (0,135 en France) (26). La tuberculose est en zone tropicale, notamment en Afrique noire et en Inde 5 fois plus fréquente et 5 à 7 fois plus meurtrière qu'en Europe (26).

Facteurs expliquant la gravité de la tuberculose (26).

Les bacilles tuberculeux n'ont pas de virulence particulière sous les Tropiques. Dans la majorité des cas il s'agit de bacilles tuberculeux de type humain (Mycobacterium tuberculosis). Dans les régions d'élevage où le lait est consommé cru, on rencontre parfois des tuberculoses à bacilles tuberculeux de type bovin (M. bovis). Le nombre de souches résistantes à un ou plusieurs antibiotiques actuellement plus faible qu'en Europe, croît régulièrement avec l'utilisation plus ou moins anarchique de ces médicaments.

Le terrain a un rôle plus conséquent : malnutrition, polyparasitisme, maladies infectieuses intercurrentes, rendent les sujets plus vulnérables à la tuberculose. L'environnement socio-économique et culturel est en fait la cause principale de la gravité de l'endémie tuberculeuse en zone tropicale. La pauvreté est directement responsable de l'entassement des familles en milieu urbain, de l'insuffisance des conditions générales d'hygiène qui favorisent la transmission de la tuberculose et de la malnutrition qui l'aggrave. L'ignorance, corollaire de la pauvreté, et parfois les coutumes ont également un rôle néfaste : faute d'éducation sanitaire, les règles élémentaires d'hygiène sont méconnues ; la nécessité d'un traitement prolongé au-delà de la guérison clinique, celle du traitement des formes asymptomatiques ne sont ni comprises, ni acceptées ; le fréquent recours aux guérisseurs traditionnels retarde le début de la cure, les habitudes de vie communautaire déterminent des contaminations familiales massives, enfin le fatalisme de certaines ethnies explique nombre de consultations tardives et d'arrêts thérapeutiques prématurés.

Le sous-développement médical enfin est responsable des dépistages insuffisants ou tardifs, de la surveillance trop espacée des malades ambulatoires, parfois du manque d'antibiotiques. Il a obligé à repenser toute la stratégie de la lutte antituberculeuse.

*

*

*

2ème PARTIE

MÉDICAMENTS ANTITUBERCULEUX

I. - BASE BACTERIOLOGIQUE. DES TRAITEMENTS DE LA TUBERCULOSE

I.- 1. Les différentes populations bacillaires des lésions tuberculeuses

Au sein des lésions tuberculeuses on peut individualiser 3 populations bacillaires distinctes :

- La première est la population des bacilles qui se multiplient activement à pH neutre dans les parois des lésions caséuses ramollies et évacuées des cavernes. Cette population atteint couramment 100 millions (10^8).
- La deuxième est la population des bacilles phagocytés par les macrophages. Etant dans un environnement acide et subissant l'effet de nombreuses enzymes, ces bacilles ont une multiplication ralentie. Leur nombre n'excède certainement pas 10^4 à 10^5 bacilles.
- La troisième population est constituée par les bacilles extracellulaires présents dans les foyers caséux solides. Bien qu'à pH neutres ces bacilles ont une multiplication fortement ralentie, voire intermittente en raison notamment des mauvaises conditions d'oxygénation. Leur taux dépasse rarement 10^4 à 10^5 bacilles.

I.- 2. Efficacité des principaux antibiotiques antituberculeux.

La Streptomycine, l'Isoniazide et la Rifampicine sont les antibiotiques les plus efficaces sur les bacilles à multiplication active dans les parois cavitaires (1ère population). Le Pyrazinamide, l'Isoniazide et la Rifampicine sont les plus efficaces sur les bacilles qui sont dans un environnement acide à l'intérieur des macrophages (2e population). Seule la Rifampicine est efficace sur les bacilles à multiplication ralentie au sein des foyers caséux.

TABLEAU N°3 : Activité des principaux antibiotiques antituberculeux selon l'état métabolique des bacilles.

ANTIBIOTIQUE	ACTIVITE SUR LES BACILLES		
	à multiplica- tion active	à pH acide	à pH neutre
(- Streptomycine	+ + +	0	0
(- Isoniazide	+ +	+	0
(- Rifampicine	+ +	+	+
(- Ethambutol	+	+	0
(- Pyrazinamide	0	+ +	0

Légendes :+, ++, +++ : activité bactéricide d'intensité croissante
 + : activité bactériostatique
 0 : pas d'activité bactériostatique.

I.- 3. La résistance du bacille tuberculeux et ses conséquences (58)

Le bacille tuberculeux, comme les autres bactéries est capable d'acquérir une résistance aux différentes drogues antibacillaires. Ces phénomènes sont fondamentaux pour la conduite du traitement (23).

I.- 3.1. La résistance du bacille tuberculeux :

La résistance demeure le problème majeur auquel on est confronté dans la lutte contre la tuberculose depuis l'avènement des antibiotiques.

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

Les mécanismes de la résistance sont bien connus

- Souches naturellement résistantes (souches Isoniazido-résistantes),
- Apparition de résistance secondaire par un traitement mal conduit et dissémination des bacilles résistants par des conditions de vie et d'hygiène défectueuses;
- Par l'activité acétylante des malades.

Dans l'étude de cette résistance, il est nécessaire de faire la part entre la résistance primaire, et la résistance secondaire.

.../...

Kreiss (41) définit la résistance primaire ainsi : "Lorsque chez un sujet n'ayant jamais reçu un médicament antituberculeux, on isole une souche capable de cultiver en présence de la concentration inhibitrice ou de concentrations supérieures de ce médicament, il s'agit de résistance primaire".

En ce qui concerne la résistance secondaire, on peut admettre la même définition que celle adoptée pour la résistance primaire, mais en ayant bien soin de préciser que le malade avait reçu au préalable un traitement spécifique. La résistance du bacille tuberculeux est considérée comme de nature chromosomique. Aucune résistance plasmidique n'a été jusqu'ici démontrée ou suspectée.

Mais cette résistance se différencie des résistances chromosomiques des autres bactéries par le taux élevé des mutants résistants présents dans les populations bacillaires normales qui joint au grand nombre de bacilles présents dans certaines lésions, explique la fréquence d'apparition de ces résistances en cours de traitement (résistance secondaire).

Ainsi la proportion de mutants résistants dans une population bacillaire normale est d'environ :

- 1 p. 10^5 bacilles pour l'Isoniazide
- 1 p. 10^5 bacilles pour la Streptomycine
- 1 p. 10^3 bacilles pour l'Ethionamide
- 1 p. 10^6 bacilles pour l'Ethambutol.

Mais seulement de 1 p. 10^8 pour la Rifampicine.

Le nombre de mutants résistants présents dans les lésions, dépend du type anatomique de celles-ci :

- Les cavernes évolutives sont très riches en bacilles ; une caverne de 2 cm de diamètre peut en contenir 10^7 à 10^9 .
- Un foyer caséux ouvert dans les bronches, moins bien oxygéné contient environ 10^4 à 10^6 .
- Les nodules et autres foyers caséux fermés sont au contraire pauvres en bacilles 0 à 10^3 .

Une caverne de 2 cm de diamètre due à une souche normale peut donc contenir d'emblée

- 10^2 à 10^4 bacilles résistants à l'Isoniazide
- 10^2 à 10^4 bacilles résistants à la Streptomycine
- 10^4 à 10^6 bacilles résistants à l'Ethionamide

10 à 10^3 bacilles résistants à l'Ethambutol
0 à 10 bacilles résistants à la Rifampicine.

Ceci explique le grand risque de sélection de mutants résistants en cas de traitement insuffisant ou mal adapté. Cette mutation -sélection est le seul mécanisme actuellement connu d'apparition de souches résistantes en clinique.

I.- 3.2. Prévention de la résistance.

Pour éviter l'émergence de souches résistantes, certaines règles sont à respecter scrupuleusement dans la prescription des antibiotiques antituberculeux :

- éviter la monothérapie car elle serait suivie inéluctablement de la sélection d'une souche résistante dans une lésion riche en bacilles. Par contre la prescription de 2 antibiotiques réduit considérablement cette possibilité à condition que la souche soit normale. Par exemple la proportion de mutants résistants à l'I N H et à la Streptomycine dans une souche normale est pour chaque antibiotique 10^5 .

La proportion de mutants résistants à ces 2 antibiotiques est donc 10^{10} en raison de l'indépendance des mutations, dans une caverne contenant 10^7 à 10^9 bacilles, il est donc peu probable qu'il existe un mutant double. Mais ce mode de prévention n'est efficace que si la souche est normale ; si au contraire elle comporte un nombre plus élevé de mutants, la prescription de 2 antibiotiques peut être insuffisante. D'où la nécessité de :

- pratiquer les tests de sensibilité in-vitro et dans leur attente prescrire de préférence 3 antibiotiques.

On peut en déduire 2 règles fondamentales :

- la nécessité de l'antibiogramme,
- la nécessité de prescrire une association médicamenteuse comportant au moins 2 antibiotiques essentiels et plutôt 3 au début du traitement.

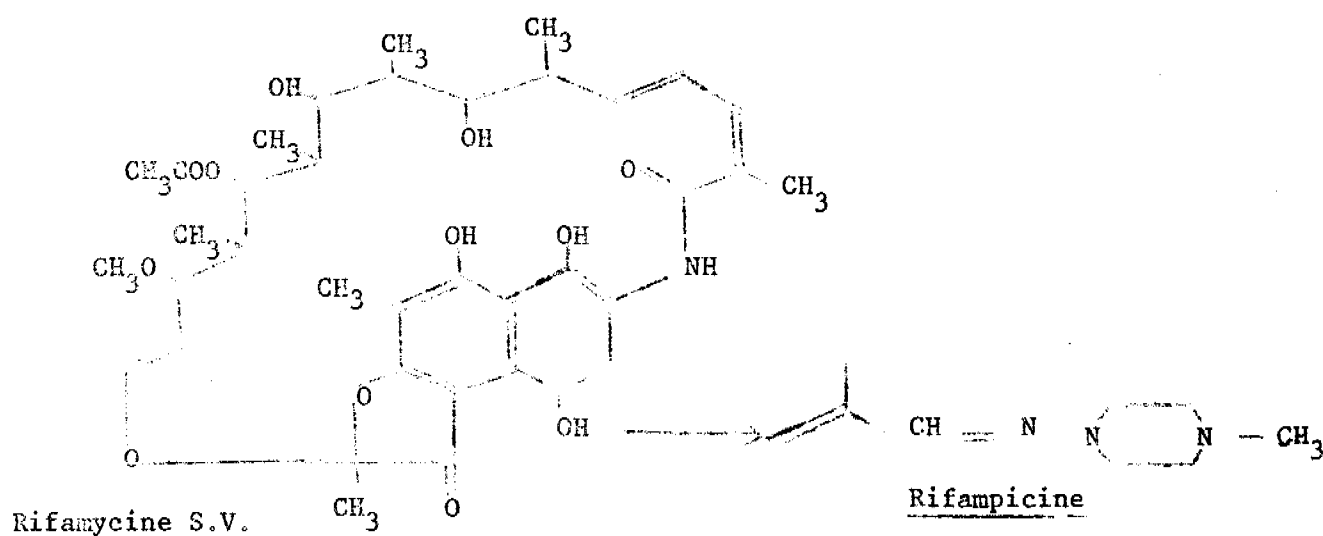
II. - MEDICAMENTS ANTITUBERCULEUX

En 1975, la commission du traitement de l'Union Internationale contre la Tuberculose (U.I.C.T.) dénombrait 12 médicaments utilisés dans le monde contre la tuberculose (17).

En 1982 à Buenos Aires (18) cette même commission en considérait 6 comme "essentiels". Il s'agit de la Rifampicine, l'Isoniazide, l'Ethambutol, la Thiacé-
tazone, le Pyrazinamide et la Streptomycine.

I. 1. Rifampicine :

La Rifampicine est un dérivé semi-synthétique de la Rifamycine S.V. qui provient de la réduction de la Rifamycine S, issue de la transformation en solution aqueuse aérée de la Rifamycine B substance produite par Streptomyces méditerranéi.



Structure Chimique de la Rifampicine

- Activité antibactérienne. La Rifampicine est un antibiotique à large spectre mais nous n'envisagerons ici que son activité antituberculeuse. La Rifampicine est la plus active des antituberculeux.

+ Activité in vitro : La Rifampicine a une activité bactériostatique, mais aussi et surtout bactéricide. Sa concentration minimale inhibitrice suivants divers milieux de culture figure sur le tableau n°4. Son activité antibacillaire s'exerce sur les mycobactéries tuberculeuses, mais aussi sur les mycobactéries atypiques. Cette activité s'exerce de façon identique sur les formes intracellulaires et intracavitaires à multiplication lente des bacilles tuberculeux.

~ Activité in vivo : Les résultats des recherches sur l'activité in vivo de la Rifampicine concordent avec ceux des travaux sur son activité in vitro. Ils prouvent en plus que la Rifampicine en monothérapie arrive à négativer 26 % des souris tuberculeuses en 3 mois. Cela est un fait exceptionnel.

Actuellement les résistances primaire et secondaire à ce médicament sont rares. La proportion de mutants est très faible 10^8 . Pour le Mali, le taux global de résistance a été estimé en 1981 à :

- 1,4 % par S.D. SANGARE (60)
- 3,3 % par I.M. TOURE, S. SANGARE et S. DOUMBIA (69).

Pour la plupart des pays, le taux global de résistance à ce médicament est inférieur à 5 %.

- Pharmacocinétique :

- + diffusion tissulaire et intracellulaire bonne,
- + taux sérique après 600 mg per os 10-20 µg/ml ;
- + demi-vie variant de 1h 30 mn à 5 heures,
- + liaison protéique : 75 - 85 % ;
- + coefficient de dépassement moyen $CD_m = 74$ ($CD_m = \frac{\text{taux sérique moyen}}{C.M.I.}$)
C.M.I. : (concentrations minima inhibitrices)
C.M.I. de l'ordre de 0,1 µg/ml.
- + élimination hépatique,
- + traverse mal la barrière hémoméningée.

- Posologie, voies d'administration.

- Posologie : 600 mg /jour chez l'adulte et 12 à 15 mg/kg chez l'enfant à jeun en une prise quotidienne.
- Voie d'administration : Voie orale ou intraveineuse (perfusion de 1h 30mn) à la dose quotidienne de 600mg chez l'adulte et 10 à 20 mg chez l'enfant.

- Toxicité :

- + inhibe par compétition l'entrée dans l'hépatocyte divers organiques choléphilés dont la bilirubine, et surtout le bromosulfophtaléine (B.S.P.). D'où l'arrêt de l'antibiotique 1 ou 2 jours avant l'épreuve.
- + ictères en association avec l'I N H par induction enzymatique ; en effet l'induction enzymatique entraîne une formation de métabolites instables de l'I N H toxiques cause de l'ictère. D'où arrêt de l'I N H et non la Rifampicine en cas d'ictère.

* insuffisance rénale aiguë, purpura thrombopénique, anémie, hémolytique, immuno-allergie.

+ interactions avec les hormones.

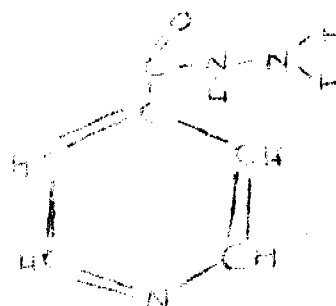
T A B L E A U N°4 : Concentration Minimale Inhibitrice des médicaments antituberculeux selon les différents milieux.(19).

M E D I C A M E N T S	C O N C E N T R A T I O N M I N I M A L E I N H I B I T R I C E		
	Milieu de Youmans 10 ⁻² mg		Milieu de Löwenstein-Jensen 10 ⁻⁴ mg
	8ème jour	18ème jour	28ème jour
Isoniazide	0,04	0,075	0,05
Rifampicine	0,15	0,30	20
Streptomycine	0,5	1	2
Kanamycine	0,5	1 - 2	20
Ethambutol	1	2,5	2
Ethionamide	0,5	2,5	20
Cyclosérine	10	15	30
Viomycine	3	10	20
Capréomycine	1	2	20
Pyrazinamide	5	10	10
P A.S.	0,1	0,5-1	0,1
Thiosemicarbazone	0,4	0,6	2

II.- 2. L'Isoniazide.

C'est l'hydrazide de l'acide isonicotinique (I N H) décrit en 1912 par Nally. C'est une substance chimique pure obtenue synthétiquement qui se présente sous forme de cristaux presque incolores et très solubles dans l'eau. Ses propriétés antituberculeuses ont été connues en 1952.

Structure chimique :



- Activités antibactériennes.

. Activité in vitro : L'activité antibactérienne in vitro de l'I.N.H. a été étudiée par de nombreux auteurs. La concentration la plus faible capable d'inhiber la croissance de M. tuberculosis varie selon les milieux de culture comme l'indique le tableau n°4 (19). L'isoniazide a une activité bactéricide sur les bacilles tuberculeux et quelques mycobactéries non tuberculeuses.

. Activité in vivo : Les résultats des différents travaux, effectués sur l'activité in vivo de l'I.N.H. concordent avec les résultats des travaux sur son activité in vitro. Ils prouvent en plus que son association avec la Rifampicine est plus efficace que son association avec les autres médicaments antituberculeux.

- Pharmacocinétique : excellente diffusion tissulaire et dans les macrophages.

Traverse les méninges.

Taux sérique après 200 mg per os = 1,6 µg/ml à la 3e h et 0,7 à la 6e h.

Fixation protéique : 20 à 30 % C.D m = 25 75.

L'isoniazide est métabolisé au niveau des hépatocytes qui le transforment en acétylisoniazide-inactif mais très toxique pour le foie. Cette dégradation se fait plus ou moins rapidement chez les sujets, ce qui retentit sur le taux sérique. On définit ainsi l'indice d'inactivation $I_3 = C_3 + 0,6$ ou $C_3 =$ Concentration sérique en INH actif exprimé en µg/ml et mesurée 3 h. précises après la prise buccale du médicament : D = dose d'Isoniazide buccale exprimée en mg/kg.

On distingue ainsi :

$I_3 < 0,40$: inactivateur rapide

$I_3 < 0,65$: inactivateur lent

$0,40 < I_3 < 0,65$: inactivateur indéterminé

L'élimination est surtout urinaire sous 3 formes : Isoniazide libre, dérivés acétylés et hydrazones.

Posologie, voies d'administration :

L'isoniazide s'administre habituellement par voie orale à la dose quotidienne de 5mg/kg chez l'adulte, 10mg/kg chez l'enfant et le nourrisson.

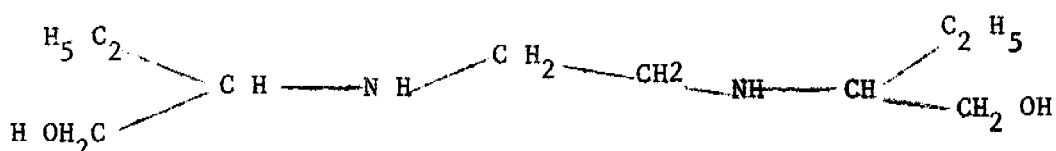
• Toxicité : L'Isoniazide est le moins toxique des antituberculeux. Cependant divers types d'accident ont été signalés :

- polynévrites par hypovitaminose B₆,
- algo-dystrophie des épaules,
- accidents neuro-psychiques très rares ;
- gastrites, atteinte hépatique ,

II.- 3. L'Ethambutol.

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

- Structure chimique :



• Activité antibactérienne.

• Activité in vitro : La concentration minimale inhibitrice de l'Ethambutol suivant les différents milieux de culture est illustrée dans le tableau n°4.

Son activité antibactérienne limitée aux mycobactéries tuberculeuses et à quelques mycobactéries atypiques s'exerce de manière similaire sur les bactéries intra et extracellulaire.

L'Ethambutol a une activité bactériostatique

• Activité in vivo : Les résultats des travaux effectués sur l'activité in vivo de l'Ethambutol concordent avec les résultats des travaux sur son activité in vitro. Ils ont prouvé en même temps que son association avec la Rifampicine est plus efficace que celle réalisée avec d'autres médicaments antituberculeux.

• Pharmacocinétique : bonne diffusion tissulaire, le pic sérique atteint 4 à 5 µg/ml, C_{Dm} = 4,7 ; la demi vie est de 6 à 8 h chez le sujet normal ; la fixation protéique est négligeable ; élimination totale réno-urinaire.

- Posologie, voie d'administration : L'Ethambutol (Dexambutol, Myambutol) est habituellement utilisé par voie orale à raison de 25mg/kg pendant les 2 premiers mois de traitement, puis 15mg/kg par la suite. On peut aussi l'employer par voie intramusculaire ou intraveineuse à la même posologie. En cas d'insuffisance rénale majeure, on administre cette dose toutes les 48 heures.

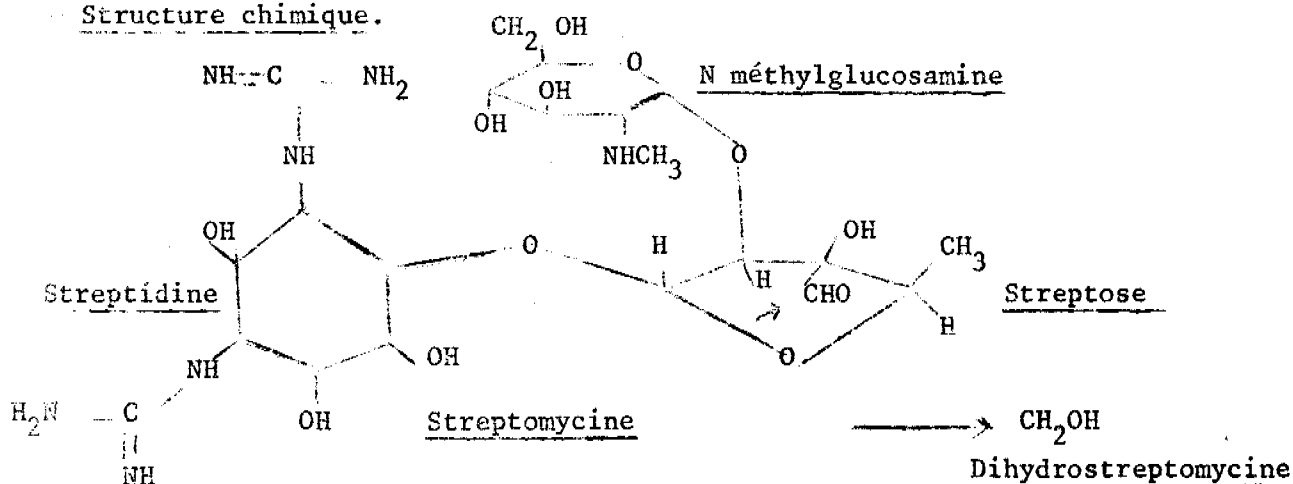
- Toxicité : atteinte du nerf optique (névrite optique rétro-tubulaire) en cas de surdosage ou chez l'insuffisant rénal.

II.- 4. La Streptomycine.

C'est le 1er antibiotique du groupe des oligo-saccharides ou aminosides ou aminoglycosides. C'est en outre le 1er des antituberculeux, isolée en 1944 par Waksman et collaborateurs de Streptomyces griseus.

- Activité antibactérienne : La streptomycine a un pouvoir bactéricide sur les formes à multiplication active. Mais elle est inactive sur les formes intracellulaires et sur les formes à multiplication lente. Son activité sur le bacille tuberculeux est 10 fois plus faible que celle de l'Isoniazide ;

- Structure chimique.



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

Après injection de 0,50 g/ voie intramusculaire, le taux sérique atteint 20µg/ml. C.Dm = 38.

Le passage intrarachidien est très faible. La liaison aux protéines du plasma est de 20 à 30 %. L'élimination est urinaire (filtration glomérulaire) sous forme active.

- Posologie, voies d'administration : La posologie est de 1 g/ jour chez l'adulte et 25 - 50mg/kg chez l'enfant.

- Toxicité : accidents allergiques ; accidents toxiques vrais (atteinte labyrinthique auditive, convulsions, atteinte de la 8e paire des nerfs crâniens).

II.- 5. Le Thioacétazone.

Le thioacétazone ou thiacétazone ou T b1 fait partie des thiosemicarbazones. Il est le thio-semi-carbazonne de l'aldéhyde para-acétyl-amino-benzoïque.

- Activité antibactérienne : La concentration minimale inhibitrice, figure sur le tableau n°4.

Son activité s'exerce essentiellement sur le M. tuberculosis et elle est voisine de celle de l'Acide para-amino-salicylique.

Il peut provoquer des réactions allergiques cutanées à type de rashes ou plus graves (syndrome de Lyell). Des troubles digestifs ont été décrits.

II.- 6. Le pyrazinamide :

C'est un dérivé isomérique de l'acide nicotinique. Sa formule est très proche de celle de l'I.N.H.

- Activité antibactérienne :

• Activité in vitro : La concentration minimale inhibitrice du pyrazinamide suivant les différents milieux de culture figure sur le tableau n° 4. L'activité du Pyrazinamide s'exerce sur les mycobatéries tuberculeuses et surtout sur les bactéries intracellulaires. Il est actif en milieu acide.

• Activité in vivo : L'activité in vivo du Pyrazinamide a été étudiée par plusieurs auteurs. J. Grosset et coll. (31) ont démontré que son adjonction dans la phase initiale du traitement, augmente l'activité stérilisante de l'association Isoniazide + Rifampicine chez la souris.

- Posologie, voie d'administration .

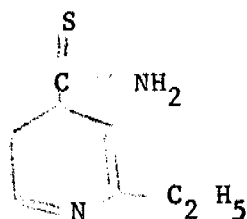
La Pyrazinamide est utilisé sous forme de Pyrazinamide pur (Piraldine) à la dose de 2g par jour sous forme de N. morpholinométhyl-pyrazinamide ou morphozinamide (Piazoline) à la dose de 3g par jour.

Il est toujours utilisé en association soit avec la Rifampicine, ou l'Isoniazide.

- Toxicité. Il est hépatotoxique et présente une interférence avec le métabolisme de l'acide urique.

II.- 7. L'Ethionamide : est un dérivé de l'acide isonicotinique, il s'agit de l'alpha-éthylthio-isonicotinamide.

- Structure chimique :



- Activité antibactérienne : L'activité sur le bacille tuberculeux est supérieure à celle de la Streptomycine et inférieure à celle de l'Isoniazide :

C M I = 1 - 2 µg/ml. Cependant les souches résistant à cette dernière sont sensibles à l'Ethionamide. Le taux de mutation est de 10^{-3} .

- Pharmacocinétique : les concentrations sanguines après absorption de 500 mg atteignent 2,6 µg/ml à la 3e h. et 3,5 µg/ml à la 6e H. L'éthionamide diffuse bien notamment dans le caséum.

- Posologie, voies d'administration : L'Ethionamide (Trécator) est prescrit habituellement par voie orale à la dose quotidienne de 500 à 750 mg chez l'adulte et 15 à 25 mg chez l'enfant.

L'utilisation est possible en perfusion intraveineuse dans du sérum bicarbonaté, la voie rectale est à éviter.

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

II.- 8. Le Prothionamide : homologue de l'Ethionamide dont l'activité antituberculeuse est similaire, il possède une résistance croisée avec elle.

La posologie du Prothionamide (Trévintix) est de 500 mg par jour chez l'adulte et 20 mg/kg chez l'enfant par voie orale.

II.- 9. L'Acide para-amino-salicylique (P.A.S.)

Le P.A.S. a beaucoup perdu de son importance avec la multiplication des drogues antibacillaires. Son action sur le bacille tuberculeux est minime et le produit est surtout utilisé pour retarder les résistances et s'opposer à l'acétylation hépatique de l'I N H. La posologie quotidienne est de 15g en perfusion veineuse et de 10 à 30g per os chez l'adulte, et de 1,5 à 2g per os chez l'enfant. Il existe de nombreuses préparations qui associent I.N.H. et P.A.S. (Paraniazide, Pasiniazide).

Le P.A.S. peut provoquer des troubles digestifs et des réactions allergiques.

III. - LES REGIMES THERAPEUTIQUES. (59)

Dans un programme antituberculeux moderne seuls les six médicaments antituberculeux "essentiels" doivent être utilisés. Cette recommandation se justifie par leur activité sur les populations bactériennes rencontrées dans les lésions.

De nombreuses associations d'antituberculeux ont été étudiées, ce qui a permis l'obtention de nombreux régimes de chimiothérapies efficaces.

Ces régimes comportent habituellement 2 phases :

- une phase initiale (ou phase d'attaque) de 4 à 8 semaines, pendant laquelle 3 ou 4 drogues (parfois plus) sont quotidiennement administrés. Cette phase permet de réduire le plus rapidement possible les diverses populations bacillaires et donc diminue les risques d'échec dûs à une résistance primaire et les risques de rechute.
- une phase de continuation (ou d'entretien) où le nombre de médicaments administrés peut être réduit à 2 ou 3, mais doit toujours comporter l'Isoniazide.

Dans tous les régimes thérapeutiques, l'administration des médicaments peut se faire :

- soit quotidiennement tout le long du traitement
- soit de façon intermittente (2 ou 3 fois par semaine) tout le long du traitement,
- soit quotidiennement durant la phase initiale et de façon intermittente durant la phase d'entretien.

Dans tous les cas, l'administration des médicaments doit avoir lieu en une seule fois dans la journée.

A côté des régimes conventionnels de 12 mois, sont apparus les régimes de chimiothérapie de courte durée : 6 à 9 mois. Ces régimes à la fois très efficaces, peu toxiques et bien tolérés ont le désavantage d'avoir un coût en médicaments plus élevé que les régimes conventionnels. Ils ont cependant l'énorme avantage, en réduisant la durée du traitement, de réduire le nombre de malades perdus de vue pendant le traitement et partant d'augmenter l'efficacité du réseau de traitement en augmentant le nombre de malades traités et guéris.

Le Tableau n°5 ci-dessous montre les régimes thérapeutiques conseillés dans les programmes antituberculeux nationaux.

TABLEAU N°5 : Régimes de Chimiothérapie dans des Programmes Nationaux Antituberculeux.

Durée totale en Mois	Régimes de Chimiothérapie	Echecs Rechutes	Toxicité
12	1 STH/TH 1 STH/S ₂ H ₂	5 - 10	4
9	2 RRHE/RH 2 SHZ/S ₂ H ₂ Z ₂	1 5	1 - 4 6 - 10
8	2 SRHZ/H 2 SRHZ/S ₂ H ₂ Z ₂ 4 S ₃ R ₃ H ₃ Z ₃ / S ₂ H ₂ Z ₂	1 2 1	1 4 - 6 4 - 6
6	2 SRHZ/RH 2 ERHZ/RH 2 SRHZ/S ₂ H ₂ Z ₂	1 1 2	1 - 6

LEGENDE : S = Streptomycine
T = Thioacétazone
H = Isoniazide
R = Rifampicine
E = Ethambutol
Z = Pyrazinamide.

Les chiffres au début des régimes indiquent la durée de la phase d'attaque.

Les chiffres placés après les lettres indiquent le nombre de doses hebdomadaires des régimes intermittents.

*

*

*

.../...

7^eme - PARTIE

M É T H O D O L O G I E

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. - PRELEVEMENTS DES PRODUITS PATHOLOGIQUES.

Les divers produits pathologiques reçus en vue de la recherche des mycobactéries sont recueillis chez des sujets suspects de tuberculose ou en cours de traitement pour cette maladie. Pour les nouveaux cas, les prélèvements sont effectués plusieurs fois avant le début du traitement avant que les antibiotiques ne suppriment toute possibilité d'apporter la preuve de la maladie.

Ils proviennent pour la plupart du Dispensaire Antituberculeux (D.A.T.) de Bamako, et du service de Pneumo phtisiologie de l'Hôpital du Point "G".

Ces prélèvements recueillis dans des récipients stériles sans milieu de transport, ni antibiotiques sont acheminés et traités au laboratoire de Bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P.).

Les malades non hospitalisés se rendent chaque matin dès le reveil au D.A.T., 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 devra être ramené le lendemain au laboratoire.

Les malades hospitalisés crachent dans des crachoirs individuels qui sont envoyés 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 sécretions rhinopharin-gées. Ceux ci sont éliminés. Les malades concernés sont reconvoqués ou munis de crachoirs en plastique. Si après 3 échantillons, on ne retrouve pas de prélèvement examinable, on répond au clinicien en lui expliquant que son patient n'arrive pas à donner de crachats.

II. - EXAMEN MICROSCOPIQUE

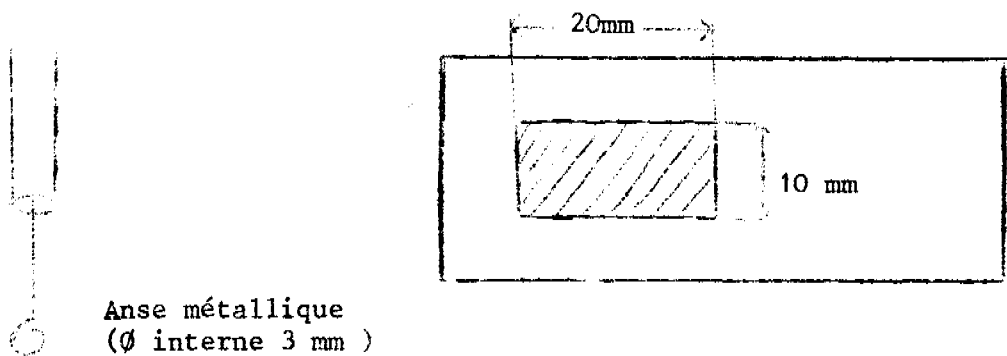
II. 1- CONFECTION DE FROTTIS

Les crachats provenant du D.A.T. et du Service de Pneumo-phtisiologie ont été examinés une première fois sur place c'est à dire au D.A.T. puis une seconde fois

après homogénéisation à l'I.N.R.S.P. Le frottis du crachat s'effectue sur des lames en verre neuves et bien dégraissées. Le numéro d'ordre du crachat est gravé avec une pointe de diamant. On prélève avec une anse de platine rigide, préalablement flambée et refroidie, une parcelle purulente ou une parcelle hémorragique du crachat. Du choix de la parcelle dépend en grande partie le résultat de l'examen microscopique (12). En effet c'est dans le matériel opaque du crachat que se trouvent plus fréquemment les bacilles que dans le matériel transparent (mucus).

La quantité de crachats déposée sur une lame en vue de la préparation d'un frottis est d'environ 0,01 ml. C'est en gros la quantité d'expectoration concentrée apportée par une anse métallique d'un diamètre intérieur de 3 mm (Figure 2). Le contenu de l'anse est étalé en couche mince par des mouvements de va et vient longitudinaux et transversaux. La surface de l'étalement est de 200 mm² (10 x 20 mm) environ

FIGURE 3. (67) Anse métallique et lames utilisées pour la préparation des frottis des crachats.



L'étalement terminé, l'anse de platine est immédiatement flambée et le frottis laissé sécher à l'air. Le séchage rapide à la flamme, qui provoque la formation d'anneaux concentriques et de précipités granuleux est déconseillé.

II.- 2. Coloration de Ziehl - Neelsen

La technique de coloration que nous utilisons est celle de Ziehl-Neelsen à froid. L'étalement est d'abord fixé par 2 ou 3 passages rapides dans la flamme, frottis au-dessus. La coloration à froid a lieu en 2 temps.:

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

III. - PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE

Tous les milieux de culture ont été préparés par nous-mêmes au laboratoire de l'Institut National de Recherche en Santé Publique.

III.- 1. Préparation du milieu de Löwenstein-Jensen

Un volume de 1.600 ml de milieu soit 600 ml de milieu de base et 1.000 ml d'oeufs (20 à 24 oeufs) est préparé de la façon suivante :

- Préparer le milieu de base de Löwenstein dans un ballon de 3 l, contenant environ 50 billes de verre de 7 mm de diamètre, mettre 500 ml d'eau distillée froide puis 12 ml de glycérol. Bien agiter.

Ajouter 37,2 g de milieu de base de Löwenstein déshydraté. Agiter. Rincer l'encolure du ballon avec l'eau distillée restante (100ml). Chauffer pendant 1/4 h. environ dans un bain marie bouillant, en agitant très souvent. Stériliser 15 mn à 120°c à l'autoclave.

- Préparer les oeufs en les brossant dans l'eau distillée. Les laisser tremper 1 heure dans l'alcool à 95°c (dans un grand cristallisoir dont le fond est tapissé de gaze).

Les égoutter sur une gaze stérile. Les casser 1 à 1, en les cognant sur le bord du cristallisoir dans un bécher. Les verser 1 à 1 dans l'éprouvette jusqu'à atteindre un volume de 1.000 ml.

Mélanger 10 s. à vitesse lente (sur 100 V) dans le bol de Waring (fractions de 500 ml).

Verser dans le ballon contenant le milieu de base. Bien agiter.

- Répartir dans des tubes à essai (16/1600 avec bouchon à vis) à raison de 6 ml par tube. Pour cela on verse le milieu de Löwenstein-Jensen dans un erlenmeyer et on distribue à l'aide d'une seringue munie d'un dispositif spécial (tuyaux de caoutchouc, pipette Pasteur et pince de Mohr). Le milieu est ensuite coagulé à 85°c pendant 45 mn.

- Sortir les tubes au bout de ce temps et les déposer sur la paille en les protégeant de la lumière. Ils doivent être conservés au réfrigérateur à + 4°c.

III.- 2. Préparation du milieu de Löwenstein-Jensen enrichi avec 0,2% de Pyruvate de Na.

Dans un grand erlenmeyer (1.000 ml), mettre stérilement, par exemple 600 ml de milieu de Löwenstein-Jensen (avec oeufs mais avant coagulation). Ajouter stérilement 6 ml de Pyruvate de Na à 20 %. Bien agiter et répartir en tubes à raison de 6 ml par tube.

III.- 3. Préparation du milieu de Löwenstein-Jensen additionné des divers antibiotiques utilisés dans notre laboratoire pour les tests de sensibilité aux antibiotiques.

Comme dans le cas du pyruvate, les antibiotiques sont incorporés dans le milieu selon des concentrations bien définies.

Les antibiotiques en poudre sont contenus dans des flacons bien fermés et gardés à + 4°c au réfrigérateur. Ils sont sortis 15 mn 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 du papier stérile et la tare a été chaque fois effectuée.

Pour la dissolution de l'Isoniazide (I.N.H.) de la Streptomycine (S.M.), de l'Ethambutol (E.M.B.), et de l'Acide thiophène-2-carboxylique (T.C.H.) nous avons utilisé de l'eau distillée, le N.N. diméthyl-formamide pour la rifampicine (R.M.P.) et le méthylsolve (solvant) pour la thiacétazone (T.B.1) Cette solution est ajoutée au milieu de Löwenstein-Jensen avant la coagulation. La quantité à ajouter est calculée de façon à avoir la concentration recherchée. Le mélange est assuré par l'agitateur magnétique.

Tableau - 6 : Gamme d'antibiotiques testés avec les concentrations testées appelées ainsi concentrations critiques en microgrammes par millitre de milieu.

ANTIBIOTIQUES	CONCENTRATIONS CRITIQUES
I. N. H.	0,2 mcg/ml
Streptomycine	4 mcg/ml
Rifampicine	40 mcg/ml
T b ₁	2 mcg/ml
T. C. H.	2 mcg/ml
Ethambutol	2 mcg/ml

IV. - LA CULTURE

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

Pour la culture, nous récoltons donc les crachats positifs à l'examen direct, dans des crachoirs en plastique. S'ils proviennent du D.A.T. nous les transportons au Laboratoire de Bactériologie de l'I.N.R.S.P.. Nous procédons à leur ensemencement le même jour. Nous avons utilisé l'une des méthodes les plus classiques qui est la méthode de Petroff.

- La méthode de Petroff : procédé à la soude.

- Réactifs :
- Solution de soude à 4 % (avec une solution 1 N de soude, dissoudre 4 g de soude dans 1.000 ml d'eau distillée et stériliser à l'autoclave).
 - Solution à 4 % de $H_2 SO_4$: ajouter lentement l'acide dans l'eau.
 - Solution aqueuse de bleu de tournésol ou bleu de bromothymol ou papier p H.

Technique : Les crachats placés dans les tubes à centrifuger fermant hermétiquement sont mis en contact avec 2 à 4 fois leur volume de soude à 4 %, selon leur viscosité. Après agitation, le mélange est placé à l'étuve à 37°C pendant 30 mn, puis on centrifuge à 3.000 tours/mn pendant 15 à 20 mn. Après décantation du liquide surnageant, on neutralise le culot de centrifugation par quelques gouttes de $H_2 SO_4$ à 4% ou HCL en présence d'un indicateur de pH. Le produit neutralisé est ensuite ensemencé à raison de 0,2 ml par tube de milieu de culture. Nous utilisons pour cela 3 tubes de milieu de culture (1 tube de Löwenstein-Jensen, 1 tube de Löwenstein-Jensen sans glycérine + pyruvate et 1 tube de Löwenstein-Jensen + pyruvate).

Inconvénient de la méthode : C'est une méthode classique. Krasnow a montré (54) que la technique de Petroff est la plus toxique pour le bacille tuberculeux. Pour cet auteur la survie du bacille tuberculeux varie en raison inverse de la concentration de soude employée.

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 (64). On doit utiliser le minimum d'acide pour la neutralisation du culot.

- Lecture des ensemencements.

Les tubes ensemencés sont placés à l'étuve à 37°C, leur bouchon dévissé. Ils sont examinés après 48 heures pour éliminer ceux qui sont contaminés et boucher les tubes qui ont séchés. Le contrôle se fait au 5e jour pour déterminer les mycobactéries à croissance rapide, puis les tubes sont examinés chaque semaine. La réponse culture négative n'est donnée qu'après 4 mois.

V. - IDENTIFICATION.

Si l'identification des mycobactéries donnant des colonies pigmentées est souvent facile, il n'en est pas de même pour les autres mycobactéries.

Leur identification repose sur les caractères cultureux, les caractères biochimiques et la sensibilité aux antibiotiques.

V. - 1. Caractères cultureux :

On doit rechercher 4 caractères :

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

Technique : On ensemence 3 tubes avec 0,1 ml d'une suspension à 10^{-3} mg/ml afin d'obtenir des colonies séparées. On enveloppe 2 des tubes de papier noir afin d'éviter toute exposition à la lumière. Puis on place les 3 tubes à l'étuve à 37°C en position couchée. Eventuellement, on peut placer 2 tubes supplémentaires à 22°, 2 tubes à 30° et 2 tubes à 45°C.

Lecture : On note

- la date d'apparition des colonies : 4e, 14e, 21e, 42e jour ;
- la taille des colonies, leur aspect rugueux (R) ou lisse (S) ;
- la pigmentation des colonies ;
- la température à laquelle la croissance se produit.

Dès l'apparition de colonies exposer pendant 1 heure à la lumière solaire ou artificielle, l'un des 2 tubes cultivés à l'obscurité. Remettre le tube à l'étuve. Observer le lendemain la pigmentation des colonies en comparant avec le 2e tube laissé à l'obscurité.

- S'il y a pigmentation des colonies sur le tube exposé à la lumière et sur le tube laissé à l'obscurité, la souche est scotochromogène,
- S'il y a pigmentation des colonies sur le tube exposé à la lumière et absence de pigmentation sur le tube laissé à l'obscurité, la souche est photochromogène ;
- S'il y a absence de pigmentation sur les 2 tubes, la souche est non chromogène.

V.- 2. Caractères biochimiques.

On recherche les 5 caractères principaux que nous avons eu à décrire :

- présence de la catalase à 22° et 70°c,
- présence de la peroxydase ;
- production d'acide nicotirique ;
- réduction des nitrates,
- transformation du citrate de fer amoniacal ;

V.- 2.1. Recherche de la catalase à 22° et 70°c.

Technique : La recherche de la catalase doit être faite sur des cultures jeunes, de moins de 1 mois.

Placer 10mg (une anse pleine) de culture dans 2 tubes à hémolyse contenant 2 gouttes d'eau distillée stérile. Porter l'un des tubes au bain-marie à 70°c pendant 20 mn. Le refroidir aussitôt après. Le second tube est placé à la température du laboratoire à 22°c pendant 20 mn. Lorsque le tube placé au bain-marie est refroidi on introduit dans les 2 tubes 1 ml de la solution suivante :

- eau distillée 170 ml
- Tween 80 10 ml
- eau oxygénée à 110 volumes 30 ml

Pour préparer cette solution, dissoudre à chaud le Tween 80 dans l'eau, Ajouter l'eau oxygénée lorsque le premier mélange est refroidi, et au moment de l'emploi.

Lecture : Après 5 mn de contact, noter le dégagement gazeux :

- pas de mousse:catalase 0 ,
- hauteur de mousse de moins de 4 cm : catalase + ,
- hauteur de mousse de plus de 4 cm : catalase + .

...../....

V.- 2.2. Recherche de la peroxydase .

sur

Cette recherche comme celle de la catalase, doit être faite/des cultures jeunes, de moins de 1 mois.

V.- 2.2.1. Méthode de la benzidine.

Technique : Déposer à la surface d'une culture sur milieu de Löwenstein-Jensen, en tube incliné, 0,5 ml de chacun des réactifs suivants :

- solution de benzidine à 1% dans l'acide acétique N (6 %),
- eau oxygenée à 1% (0,5 ml d'eau oxygenée à 110 volumes dans 14,5ml d'eau distillée).

Lecture : Elle est faite après 10 mn de contact :

- les colonies bleu-noir : peroxydase +
- les colonies peu ou pas colorées : peroxydase -

V.- 2.2.2. Méthode au catéchol :

Déposer à la surface d'une culture sur Löwenstein-Jensen, 1ml de mélange des 3 réactifs suivants, préparé extemporanément.

- | | |
|--|----------|
| - tampon acétate à 0,2 M à pH 4 | 50 ml |
| - 41 ml de la solution { acide acétique pur..... | 1 ml |
| { eau distillée..... | 85 ml |
| (- acétate de soude..... | 29,72 ml |
| sont ajoutés à 9ml de) | |
| (eau distillée..... | 100 ml |
| - catéchol à 2%..... | 10 ml |
| - eau oxygenée à 1 %..... | 5 ml |

Lecture : Elle est faite après 24 heures de contact :

- les colonies noires sont peroxydase +
- les colonies peu ou pas colorées sont peroxydase -

Les mycobactéries atypiques qui donnent généralement une activité catalasique très positive, ont une activité peroxydasique positive avec la benzidine et négative avec le catéchol. Les colonies de bacille tuberculeux humains et bovins S. (Smooth-lisse) ont une réaction peroxydasique positive avec les 2 techniques et les bacilles R. (Rough = rugueux) une réaction doublement négative.

V.- 2.3. Recherche de l'acide nicotinique ou Niacin-Test (Test de Konno (37)).

Technique : La recherche s'effectue sur des cultures âgées de plus de 1 mois.

- Technique directe : Sur une culture abondante en milieu de Löwenstein-Jensen, porter 1 ml d'eau distillée. Placer à l'étuve pendant 2 heures. Prélever l'eau riche en bacilles et ajouter 1 ml de solution d'aniline à 4 % à l'aide d'une pipette-Pasteur, puis 2 ml de solution de bromure de cyanogène.

La réaction est instantanée et elle est de coloration jaune si elle est positive, et elle est incolore si elle est négative.

- Technique à l'ébullition : Sur une culture abondante en milieu de Löwenstein-Jensen, porter 1 ml d'eau distillée stérile. Placer à l'étuve pendant 2 heures. Prélever l'eau riche en bacilles. Mettre au bain-marie bouillant (100°C) pendant 30 mn. Laisser refroidir. Ensuite mettre 2 gouttes de cette suspension sur une plaque à godets. Ajouter 2 gouttes de solution d'aniline à 4 %, puis 4 gouttes de solution de bromure de cyanogène à 10 %.

La réaction est instantanée : elle est positive lorsque la coloration jaune apparaît.

Formule des réactifs :

- Solution d'aniline à 4 % : Préparer une solution à 4 % dans de l'alcool à 96°. Cette solution peut se conserver au réfrigérateur à + 4°C pendant 3 mois (autant que possible à l'abri de la lumière).

- Solution de bromure de cyanogène à 10 % : Introduire 10 g de bromure de cyanogène dans un flacon de 100 ml vide. Ajouter ensuite 100 ml d'eau distillée (devant une fenêtre ouverte, ou protégé par une hotte afin d'éviter les vapeurs toxiques).

La solution obtenue de bromure de cyanogène est à 10 %, c'est une solution saturée. Avant l'emploi, il y a intérêt à la placer 10 mn à l'étuve.

V.- 2.4. Réduction des nitrates

Réactifs : . Solution en eau distillée de nitrate de soude à 0,085% stérilisée à l'autoclave.

.../.....

- . Réactif I : acide chlorhydrique pur
- . Réactif II : sulfanilamide à 2 %
- . Réactif III : chlorhydrate de N-alpha-naphtyldiethyl- propylène-
diamine à 0,1 %.

Technique : Dans un tube à hémolyse contenant 2 gouttes d'eau distillée, introduire 10 mg de bacilles (une spatule pleine). Ajouter 2 ml de la solution de nitrate. Porter 2 h à l'étuve à 37°C. Ajouter 1 goutte du réactif I, ensuite 2 à 3 gouttes du réactif II, puis 2 à 3 gouttes du réactif III.

Lecture : Elle s'effectue immédiatement :

- réaction positive : coloration rouge,
- réaction négative : pas de coloration ou coloration rose pâle,
- réaction douteuse: coloration rose.

V.- 2.5. Réaction au citrate de fer ammoniacal (C.A.F.)

Technique : Déposer dans le fond d'un tube de milieu de Löwenstein-Jensen ou de Colet sos, maintenir verticalement, 1 ml d'une solution stérile contenant 40 mg/ml de citrate de fer ammoniacal. Le tube est ensuite largement ensemencé avec la souche à tester.

Si la végétation abondante obtenue en position verticale à l'étuve à 37° entraîne l'apparition d'une teinte brune d'oxyde de fer, la réaction est positive (C A F +) dans le cas contraire la réaction est négative (C A F -).

Cette réaction préconisée par Tison, Tacquet et Devulder permet de caractériser un certain nombre de mycobactéries à croissance rapide.

V I. - TEST DE RESISTANCE DU BACILLE TUBERCULEUX AUX ANTIBIOTIQUES.

La méthode utilisée est celle des proportions décrite par Canetti, Rist et Grosset (11, 13). La mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux antibiotiques est actuellement bien codifiée. La méthode qu'il y a lieu de suivre, appelée méthode des proportions est à la portée de tout laboratoire normalement équipé.

Elle donne des renseignements précis à condition d'être exécutée avec minutie. Deux variantes de test de résistance sont possibles, l'une rapide, l'autre lente. La variante rapide, exécutée sur le produit pathologique même, fait gagner 3 à 4 semaines, mais elle ne peut être employée que pour les produits riches en bacilles : c'est le test direct. La variante lente qui nécessite une culture préalable (primo-culture) peut être employée quelle que soit la richesse des produits en bacilles : c'est le test indirect. Dans les 2 variantes, le principe du test, le milieu de culture à employer et l'interprétation des résultats sont strictement les mêmes.

VI. 1. Principe de la méthode des proportions

Un test de sensibilité par la méthode des proportions consiste à mesurer la proportion de bacilles résistants qui existe dans une souche de bacilles tuberculeux. Pour y parvenir le test doit indiquer le nombre total de bacillesensemencés, et le nombre de bacilles résistants présents parmi ces bacilles. Ce renseignement est obtenu par l'ensemencement de 3 dilutions bacillaires, l'une cent fois plus faible que l'autre : ces dilutions sont 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 antibiotique (bacilles résistants) avec le nombre de colonies obtenu sur le milieu sans antibiotique (bacilles sensibles et résistants réunis, c'est à dire population bacillaire totale), on obtient facilement la proportion de bacilles résistants qui existe dans la souche testée. En deça d'une certaine proportion, dite proportion critique, la souche est classée comme sensible ; au delà, comme résistante.

VI.- 2. Test indirect.

Le test indirect est réalisé à partir de la primo-culture des produits sur milieu de Löwenstein-Jensen.

VI.- 2.1. Technique :

VI.- 2.1.1. Préparation de la suspension bacillaire : On prélève avec une spatule en platine de 12 x 6 mm, 5 mg de culture. Le prélèvement est placé dans un ballon stérile de 5 cm de diamètre contenant une trentaine de billes de verre de 3 à 5 mm de diamètre.

Le ballon est agité à sec pendant 30 s. On ajoute 0,1 ml d'eau distillée stérile, et agiter pendant 15 secondes.

VI.- 2.1.2. Etalonnage.

- Transférer dans un tube à essai stérile.
- Ajuster l'opacité de la suspension par adjonction d'eau distillée, à l'opacité d'une suspension bacillaire de B.C.G. à 1 mg/ml (cet étalon, fourni sur demande par l'Institut Pasteur, est une suspension de B.C.G. en eau, Standardisé à 1mg/ml et placé dans un tube scellé de 22 mm de diamètre. Il doit être conservé au réfrigérateur et placé à la température du laboratoire 15 mn avant l'emploi).

- A partir de cette suspension préparer 3 dilutions : 10^{-1} , 10^{-3} et 10^{-5} , On procède par échelon décimétrique (10^{-1} mg/ml, 10^{-2} mg/ml etc ..., jusqu'à 10^{-5} mg/ml). Par exemple pour préparer la dilution 10^{-1} mg/ml, on place 0,5 ml de la dilution 1 mg/ml dans 4,5 ml d'eau distillée ; on mélange soigneusement en aspirant le liquide plusieurs fois dans la pipette.

Pour préparer la dilution 10^{-2} mg/ml, on change de pipette on place 0,5 ml de la dilution 10^{-1} mg/ml dans 4,5 ml d'eau distillée, on mélange. On procède ainsi avec chacune des dilutions. Les dilutions à ensemercer sur milieu sans antibiotiques et sur milieu avec antibiotiques sont : 10^{-1} mg/ml, 10^{-3} mg/ml et 10^{-5} mg/ml.

VI.- 2.2. Ensemencement : Avec chacune des dilutions 10^{-1} , 10^{-3} et 10^{-5} mg/ml, on ensemece 2 tubes de milieu sans antibiotique et 1 tube de milieu par concentration d'antibiotique. La semence est de 0,2 ml par tube.

Dans notre laboratoire nous ensemencons sur 2 milieux sans antibiotique et 1 tube de chacun des 6 antibiotiques que nous utilisons pour le test de résistance, et ceci pour chacune des dilutions. Le nombre total de tubes employés lors d'un test est ainsi de 18.

Après ensemencement, les tubes ne sont pas complètement vissés. Ils sont placés à l'étuve à 37°, légèrement inclinés sur l'horizontale : le liquide doit recouvrir toute la surface du milieu. Au bout de 3 à 4 jours, lorsque le liquide est complètement évaporé, les tubes sont bien vissés, puis remis à l'étuve jusqu'à la lecture des résultats.

TABLEAU N°4 : Nombre de tubes ensemencés dans notre laboratoire lors d'un test par la méthode des proportions.

.../...

DILUTION	TEMOIN	I N H 0,2 µg/ml	STREPT. 4µg/ml	T C H 2 µg/ml	R M P 40µg/ml	E M B 2µg/ml	Tb ₁ 2µg/ml
10 ⁻²	2	1	1	1	1	1	1
10 ⁻³	2	1	1	1	1	1	1
10 ⁻⁵	2	1	1	1	1	1	1

VI.- 3. Test Direct.

Le frottis initial étant fait, on décontamine le crachat par la méthode de Petroff décrite précédemment. Le produit final constitue la dilution I

Cette dilution I qui représente la dilution 10⁻¹ va servir à préparer les autres dilutions jusqu'à 10⁻⁵. On procède en ce moment comme dans le cas du test indirect.

VI.- 4. Interpretation des résultats.

La 1ère lecture est faite au 28e jour, si elle indique une résistance, une lecture ultérieure est inutile. Si la souche paraît sensible une 2e lecture au 42e jour donne une réponse définitive.

On compte avec soin les colonies qui ont poussé avec les 3 inoculum (10⁻¹, 10⁻³ et 10⁻⁵ mg/ml), la moyenne des colonies des 2 tubes témoins donne le nombre de bacilles vivants contenus dans l'inoculum.

On confronte cette proportion avec la proportion critique adoptée pour l'antibiotique correspondant, afin de voir si elle se situe en deçà (souche sensible) ou au delà (souche résistante).

Les proportions critiques admises pour chaque antibiotique :

- I N H	= 1 %	si la concentration dans le milieu est	0,2 µg/ml
- Streptomycine	= 1 %	"	4 µg/ml
- Rifampicine	10 %	"	40 µg/ml
- Tb ₁	= 10 %	"	2 µg/ml
T.C.H.	= 1 %	"	2 µg/ml
- E.M.B.	= 10 %	"	2 µg/ml

.../...



Exemple d'interprétation d'un test indirect.

Un test indirect a fourni pour les antibiotiques testés, le nombre de colonies suivantes :

(DILUTIONS (ENSEMENSÉES)	TEMOINS	I N H 0,2 µg/ml	STREPTO 4 µg/ml	RIFAMPIC. 4 µg/ml	E M B 2 µg/ml	T C H 2 µg/ml	T B ₁ 2 µg/ml
10 ⁻¹	⊖ ⊖	⊖	⊖	0	0	0	⊖
10 ⁻³	98 102	20	12	0	0	0	80
10 ⁻⁵	1 0	2	2	0	0	0	6
% Résist.	20	20 %	12 %	0 %	0 %	0 %	80 %

(⊖ = incomptable).

Le nombre total de bacilles contenus dans 0,2ml de la dilution 10⁻³ est de :

$$\frac{98 + 102}{2} = 100.$$

On trouve sur le tube de 0,2 µg/ml d'I.N.H., ensemencé avec la dilution 10⁻³, 20 colonies, la souche contient donc : $\frac{20}{100} \times 100 = 20\%$ de bacilles résistants à 0,2 µg/ml. Or la proportion critique admise pour être sensible à l'I N H est de 1% pour 0,2 µg/ml. La souche est donc résistante à l'I N H.

- En raisonnant comme précédemment, on trouve sur le tube de 4 µg/ml de Streptomycine ensemencé à la dilution de 10⁻³, 12 colonies. La souche contient :

$$\frac{12}{100} \times 100 = 12\% \text{ de bacilles résistants à } 4 \mu\text{g/ml de streptomycine.}$$

La proportion critique pour la Streptomycine étant de 1% pour 4 µg/ml, la souche est donc résistante à la streptomycine. Il en est de même pour le Tb₁ qui contient 80 % de bacilles résistants, sa proportion critique étant de 10 %. Il n'y a aucune colonie sur les tubes contenant 0,5 µg de P A S; 40 µg de Rifampicine, 2 µg d'Ethambutol et 2 µg de T C H. La souche testée contient moins de $\frac{1}{100} \times 100 = 1\%$ de bacilles résistants à ces antibiotiques, proportion inférieure aux proportions critiques tolérées, la souche est donc sensible à ces antibiotiques.

.../....

VI.-- 3. Test de sensibilité au T.C.H.

Ce test s'effectue en même temps que le test de sensibilité aux antibiotiques. Seules les souches normales de M. tuberculosis poussent sur le milieu impregné. Mais ce test ne permet plus une discrimination entre les souches en cas de résistance à l'I.N.H., entraînant une résistance croisée au T.CH. (64).

*

*

*

4 ème - PARTIE

R É S U L T A T S

De février 1989 à Mars 1990, nous avons procédé à la recherche des mycobactéries sur 442 crachats et sur 28 autres produits pathologiques qui se répartissent comme suit dans le tableau n°7

T A B L E A U - 7 : Répartition des prélèvements en fonction de leur nature.

	P R E L E V E M E N T S						
	Crachats	Liquide d'ascite	Urines	Pus ganglionnaire	Pus pleural	Pus articulaire	Liquide d'épanchement du genou
(Nombre	442	5	9	6	1	4	8

I.- EXAMEN DIRECT

Sur un total de 460 prélèvements, les examens directs ont été positifs 310 fois soit dans 67,39 % des cas. (tableau n°8).

T A B L E A U - 8 : Résultats des examens directs.

	EXAMEN DIRECT POSITIF	EXAMEN DIRECT NEGATIF	T O T A L
(Nombre	310	150	460
(Pourcentage	67,39 %	39,61 %	100 %

Nous avons effectué l'examen direct avant et après homogénéisation et dans les 2 cas nous avons trouvé des résultats identiques.

II.- LA CULTURE

La culture a permis l'isolement de 226 souches dont 117 sont identifiées comme Mycobactéries tuberculeuses, 3 sont identifiées comme atypiques et 106 sont en cours d'identification. Les 84 autres échantillons n'ont pas poussé. Le tableau 9 nous montre les résultats des cultures.

.../...

T A B L E A U - 9 : Résultats des cultures à partir de 310 crachats positifs à l'examen direct.

	CULTURE (+)	CULTURE (-)
Nombre	226	84
Pourcentage	72,90 %	27,10 %

Sur les 310 échantillons positifs à l'examen direct, la culture a donné 226 souches soit 72,90 % des cas, et 84 cultures négatives soit 27,10 % des cas.

III.- REPARTITION DES PRELEVEMENTS.

III.-1. En fonction du sexe : Le tableau 10 nous montre la répartition des prélèvements en fonction du sexe.

T A B L E A U - 10 : Répartition des prélèvements positifs et négatifs à l'examen direct en fonction du sexe.

PRELEVEMENTS \ S E X E	MASCULIN	FEMININ	TOTAL
Total	330	130	460
Nombre de prélèvements positifs	241	69	310
Nombre de prélèvements négatifs	89	61	150
Pourcentage de positifs	73,03 %	53,07 %	67,39 %

Le pourcentage d'hommes infectés (73,03 %) est plus élevé que celui des femmes (53,07 %), la différence est statistiquement significative : $\chi^2 = 16,0001$

- probabilité := P < 0,0001

.../...

III.-2. En fonction de l'âge :

Le tableau 11 nous montre la répartition des prélèvements positifs et négatifs en fonction de l'âge :

PRELEVEMENTS		TOTAL	%	POSITIFS		NEGATIFS	
				N	%	N	%
TRANCHES D'AGES							
0	- 9 ans	10	2,17	3	30	7	70
10	- 19 ans	42	9,13	27	64,28	15	35,71
20	- 29 ans	130	28,26	102	78,46	28	21,54
30	- 39 ans	110	23,91	80	72,73	30	27,27
40	- 49 ans	58	12,61	47	81,03	11	18,97
50	- 59 ans	45	9,78	32	71,11	13	28,89
	> 60 ans	20	4,35	19	95,00	1	5,00
Indeterminés		45	9,78	0	0	45	100
TOTAL =		460	100	310	67,39	150	32,61

T A B L E A U 11 : Répartition des prélèvements positifs et négatifs en fonction de l'âge des malades.

Les résultats du tableau montre que la fréquence de la tuberculose est plus élevée pour la tranche d'âge allant de 60 à plus de 60 ans, celle qui suit est la tranche d'âge allant de 40 à 49 ans. Les tranches d'âge allant de 20 à 29 ans, de 30 à 39 ans et de 50 à 59 ans ont à peu près la même fréquence.

.../....

IV.- IDENTIFICATION.

Sur les 226 cultures positives, nous avons effectué les tests d'identification sur 120 souches. Cela a permis l'identification de 114 Mycobactérium tuberculosis (95 %), 3 M. africanum (2,5 %) et 3 Mycobactéries atypiques (2,5 %).

Le taux de M. tuberculosis (95 %) est très élevé par rapport à celui des autres types de mycobactéries. : M. africanum (2,5 %) et Mycobactéries atypiques (2,5 %), nous n'avons pas identifié de M. bovis dans notre échantillon.

Le faible pourcentage de M. africanum peut s'expliquer par le fait que nous n'avons pas utilisé de milieu de Coletsos (coût élevé, entretien difficile), et le milieu de Lowenstein-Jensen additionné de pyruvate qui peut le remplacer n'a été utilisé que pendant une courte période.

V.- TESTS DE SENSIBILITE.

Sur nos 60 souches dont la sensibilité a été testée, 43 proviennent de malades n'ayant jamais été traités et dont l'étude recherche la résistance primaire. C'est sur ces 43 nouveaux malades que notre étude va porter. Les 17 autres souches proviennent de malades ayant reçu au préalable un traitement. Ils feront l'objet d'un autre travail portant sur la résistance secondaire.

• Résistance primaire : La répartition des résistances primaires aux antituberculeux testés à l'antibiogramme (I.N.H. S.M., Rifampicine, T.b₁, E.M.B.) est consignée dans le tableau 12.

.../...

T A B L E A U - 12 : Résistance primaire des mycobactéries (M. tuberculosis et M. africanum).

ANTIBIOTIQUES	RESISTANTS		SENSIBLES	
	N	%	N	%
Isoniazide	10/43	23,26	33/43	76,74
Streptomycine	9/43	20,93	34/43	79,07
Rifampicine	1/43	2,33	42/43	97,67
Thiacétazone	9/43	20,93	34/43	79,07
Ethambutol	4/43	9,30	39/43	90,70
I N H + S M	8/43	18,60	35/43	81,40
I N H + S M + R M P	1/43	2,33	42/43	97,67
I N H + S M + E M B	2/43	4,65	41/43	95,35
I N H + S M + T b 1	6/43	13,95	37/43	86,05
T O T A L	16/43	37,21	27/43	62,79

Sur nos 43 souches provenant de nouveaux malades, 16 sont résistantes soit 37,21%

Le tableau montre une résistance de 23,26 % de l'I.N.H, de 20,93 % à la Streptomycine de 20,93 % à la thiacétazone, de 9,30 % à l'éthambutol et de 2,32 % à la rifampicine.

La résistance aux 2 antibiotiques les plus utilisés Isoniazide et/ou streptomycine est de 23,26 %.

5^{ème} - PARTIE

DISCUSSION

I. - EXAMEN DIRECT ET CULTURE

Sur les 460 prélèvements que nous avons effectués, 310 (67,39%) étaient positifs à l'examen direct. Sur ces 310 crachats positifs à l'examen direct et mis en culture, 226 ont poussé soit 72,90 %.

Le fait qu'une culture soit négative lorsqu'elle a été préparée à partir d'une expectoration contenant des bacilles tuberculeux peut tenir à des causes diverses (67). Chez les malades étant sous traitement, les bacilles vus à l'examen direct peuvent avoir perdu leur aptitude à pousser sur les milieux de culture, et être pratiquement morts. Chez des malades n'ayant jamais reçu de chimiothérapie, les crachats peuvent avoir été exposés à la lumière solaire ou à la chaleur, stockés trop longtemps avant l'examen, s'être desséchés, ou avoir été contaminés. Une décontamination excessive avant l'ensemencement, des milieux de culture inadéquats, une incubation faite dans de mauvaises conditions, peuvent également entraîner des résultats négatifs à la culture.

Dans notre cas il pourrait s'agir de malades sous traitement, d'irrégularité dans la fourniture d'électricité (pendant une certaine période) et de l'absence d'utilisation dans certains milieux de Löwenstein-Jensen + pyruvate.

II. - REPARTITION DES PRELEVEMENTS.

II.-1. En fonction du sexe : Nous avons trouvé dans notre étude un pourcentage d'hommes infectés (73,03 %) plus élevé que celui des femmes (53,07 %). Le calcul du χ^2 nous a permis de montrer que cette différence était statistiquement significative.

Nous constatons ce même rapport dans les thèses de MAIGA (46) 72% d'hommes pour 28 % de femmes en 1983 et de SANGARE (56) 53 % d'hommes pour 19 % de femmes en 1982. TOURE et collaborateurs ont fait les mêmes constatations dans leurs études menées au Togo de 1981 à 1983 en Haute Volta et au Mali en 1980 (70). Cette constatation compte tenu du sexe de la population de tous ces pays qui est à la faveur du sexe féminin a conduit TOURE et collaborateurs (70) à 2 questions :

- 1°) - Le bacille tuberculeux a-t-il une affinité particulière pour les hommes ?
- 2°) - Le sexe féminin a-t-il une prémunition immunologique plus efficace contre la tuberculose que le sexe masculin ?

.../....

Nous nous joignons à eux pour dire qu'une étude immunologique et même sociologique est nécessaire pour répondre à ces questions, tous les 2 sexes dans nos pays étant soumis aux mêmes conditions socio-économiques et sanitaires.

Pour Touré et collaborateurs (70) l'hypothèse de certains selon laquelle les femmes crachent moins que les hommes semble insuffisante pour expliquer ce phénomène.

Nous pensons qu'il est possible aussi que dans nos pays la femme consulte moins que l'homme.

II.-2. En fonction de l'âge :

Dans notre étude la fréquence de la tuberculose la plus élevée se retrouve chez les malades de 60 à plus de 60 ans (95 %), suivie par celle des adultes de 20 à 59 ans (entre 70 et 80 %). Le taux le plus faible se retrouve chez les sujets de 0 à 9 ans (30 %). Nous pouvons donc dire que la tuberculose est plus fréquente chez les sujets âgés.

III. - I D E N T I F I C A T I O N

Nous avons identifié 114 Mycobactérium tuberculosis (95 %) et 3 M.africanum (25 %). Le faible pourcentage de M. africanum peut s'expliquer par le fait que nous n'avons pas utilisé de milieu de Coletsos (coût élevé, entretien difficile), et le milieu de Löwenstein-Jensen additionné de pyruvate qui peut le remplacer n'a été utilisé que pendant une courte période.

Des travaux précédents ont montré que le taux réel du laboratoire est entre 65 et 70 % pour M. tuberculosis et autour de 30 % pour M. africanum. C'est ainsi que SANGARE (60) trouvait 68,18 % de M. tuberculosis contre 29,54 % de M. africanum en 1981 - 1982 et Maïga (46) trouvait 65 % de M. tuberculosis contre 32 % de M. africanum en 1982 - 1983.

Les taux de M. tuberculosis confirment les résultats déjà disponibles, montrant une fréquence plus élevée de cette mycobactérie dans la tuberculose dans notre pays.

En effet, cette mycobactérie a été retrouvée avec une fréquence de 67,5 % en 1972 - 1973 (Grosset et coll.) (31), 67,2 % en 1979 - 1980 par Touré et Sangaré (69).

Des études similaires ont été faites dans d'autres pays et selon la publication O.C.C.G.E. N°166/BIO-CM 7533/Doc. TECHN. 80, on a ainsi trouvé :

- en Mauritanie : sur 156 souches, 67 M. tuberculosis (57 %).
- au Niger : à Niamey sur 264 échantillons, 54,4 % de M. tuberculosis.
- au Burkina-Faso (ex Haute Volta) : sur 55 souches à Dori, 49 % de M. tuberculosis

En 1987 67,4 % de M. tuberculosis contre 32,6 % de M. africanum.

En 1975 sur 429 cultures positives 68 % de M. tuberculosis contre 32 % de M. africanum

Au Togo en 1981 - 1983, Touré et collaborateurs (70) trouvaient 47,80 % de M. tuberculosis contre 48,25 % de M. africanum. Contrairement aux autres résultats il y a au Togo presque autant de M. africanum que de M. tuberculosis

Les taux de M. africanum sont également proches de ceux déjà trouvés : 32,5 % en 1972 - 1973 par Grosset et coll. (31) ; 30,4 % en 1979 - 1980 par Touré et Sangaré (69). Ces taux sont inférieurs à ceux trouvés en Mauritanie 43 % (71), au Niger 45,5 % (71), au Ghana 80 %, au Nigéria 70 % (71), et au Togo 48,25 % (70). Ils sont supérieurs à celui trouvé au Sénégal 18,6 % (1973 - 1978) (51).

On constate une analogie entre les taux de M. tuberculosis et M. africanum trouvés au Mali et au Burkina-Faso. En Afrique Centrale et de l'Est le taux de M. africanum reste encore très élevé de 60 à 90 % (71). On ne retrouve pas cette mycobactérie en Afrique du Nord. Elle apparaît alors comme une espèce de l'Afrique Noire. Elle a été répartie en plusieurs variétés dont les types Dakar, Yaoundé, Rwanda I et Rwanda II.

Dans notre échantillon nous n'avons pas trouvé de M. bovis. Par contre 3 mycobactéries atypiques ont été identifiées. Mais nous ne pouvons les incriminer dans l'étiologie de l'infection étant donné qu'elles n'ont été isolées qu'une seule fois chez les malades concernés.

IV. - TESTS DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES.

La résistance primaire aux 2 antibiotiques les plus utilisés (I.N.H. et/ou Streptomycine) est de 23,26 %. Cette même résistance a été trouvée dans 18 % des cas en 1972 - 1973 par Grosset et collaborateurs (31), dans 18 % des cas en 1980 par B. Koumaré, C. Truffot et J. Grosset (39), dans 18,18 % des cas en 1981 par Sangaré (60) et dans 22,41 % des cas par Maïga en 1982 (46). On peut donc constater que cette résistance est autour de 18 % et qu'à partir de 1982 on constate une légère augmentation.

Dans le tableau 13 on peut voir l'évolution de la résistance primaire à certains antibiotiques au Mali.

TABLEAU - 13 : Evolution de la résistance primaire à I.N.H. , Streptomycine, et Rifampicine au Mali de 1972 à 1990.

ANNEE	1972-1973	1979-1980	1980-1981	1981-1982	1982-1983	1989-1990
ANTIBIOTIQUES						
I.N.H. seul	-	-	35 %	11,1 %	12,06 %	23,26 %
Streptomycine seule	-	-	33,3 %	5,5 %	5,17 %	20,93 %
I.N.H. et S.M.	-	-	-	20,8 %	5,17 %	18,60 %
I.N.H. et/ou S.M. ...	18 %		16 %	18,18 %	22,41 %	23,26 %
Rifampicine	-	-	3,3 %	1,4 %	1,72%	2,32 %

A part les chiffres trouvés en 1979-80 (71) la résistance primaire à l'I.N.H. et/ou la Streptomycine semble se stabiliser autour de 18 %. Mais à partir de 1982-1983 nous constatons une légère hausse de ce taux de résistance primaire qui semble se confirmer par notre taux de résistance 23,26 %.

Elle est de l'ordre de 8 % en France et en Algérie donc environ 3 fois moins élevé q'au Mali.

.../....

Nous constatons que la résistance primaire à la rifampicine semble se stabiliser autour de 2 %, en comparant nos résultats à ceux déjà trouvés. Nous avons obtenu un taux de 2,63 %, il était de 3,3 % en 1980 (69) (71), de 1,72 % (46) en 1982 et de 1,4 % en 1981 (60). Pour la plupart des pays le taux global de résistance à ce médicament est inférieur à 5 %.

Nous avons un taux de résistance primaire de 20,93 % pour le Tb₁ et de 9,30 % pour l'éthambutol. Nous constatons que ces taux sont inférieurs à ceux trouvés en 1980 par Touré et coll. (69) 31,7 % pour le Tb₁ et 39,2 % pour l'éthambutol.

La comparaison des résistances primaires par antibiotiques (Tableau 14) observées en Afrique de l'Ouest aux nôtres font ressortir un certain nombre de points :

- La fréquence des résistances primaires est variable d'une région à une autre.
- Dans la majorité de ces pays la résistance à la Streptomycine est plus élevée qu'à l'I.N.H.
- Nous constatons que notre pays a une résistance primaire assez élevée qui doit nous inciter à plus de vigilance.

T A B L E A U - 14 : Les résistances primaires par antibiotiques dans certains pays de l'Afrique de l'Ouest.

ANNEES	P A Y S	AUTEURS	NOMBRE DE SOUCHES	% DE RISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES				
				I N H	S M	Tb 1	RMP	EMB
1966	Haute Volta	ALBERT (2)	101	13 %	18 %	-	-	-
1967	Haute Volta	ALBERT (2)	115	14,8 %	22,6 %	-	-	-
1967	Sénégal	SARRAT (62)	202	20 %	10,4 %	-	-	-
1970	Haute Volta	ALBERT (2)	109	20,2 %	21,1 %	-	-	-
1971	Haute Volta	ALBERT (2)	88	18,1 %	14,7 %	-	-	-
1973-1974	Côte d'Ivoire	ROUDAUT (58)	318	10,4 %	13,5 %	-	-	-
1975-1976	Mauritanie	VILLON (73)	90	13,3 %	20,0 %	-	-	23,9 %
1975	Sénégal	DE SOUZA(20)	628	18,4 %	18,7 %	18,4 %	-	-
1977	Côte d'Ivoire	ROUDAUT (58)	583	5,6 %	8,8 %	-	-	-
1977	Haute Volta	REY (57)	-	19,5 %	23,9 %	25,8 %	-	-
1978	Haute Volta	REY (57)	-	8,7 %	6,5 %	47,8 %	-	-
1980	Mali	TOURE (69)	120	35,0 %	33,3 %	31,7 %	3,3 %	39,2 %
1981	Mali	SANGARE (60)	33	11,1 %	5,5 %	-	1,4 %	-
1981-1983	Togo	TOURE (70)	227	19,82%	29,07%	30,97%	7,49%	-
1982	Mali	MAIGA (46)	58	12,06%	5,17 %	-	1,72%	-
1989-1990	Mali	LE TRAVAIL	43	23,26%	20,93%	20,93%	2,32 %	9,30 %

- Les polyrésistances primaires : (Tableau 15).

Nous constatons dans le tableau 15 que les polyrésistances sont assez fréquentes et élevées dans notre pays. Des efforts sont à fournir pour ralentir et arrêter le développement de cette polyrésistance.

T A B L E A U - 15 : Résultats comparatifs de la polyrésistance primaire dans certains pays de l'Afrique de l'Ouest.

ANNEES	P A Y S	AUTEURS	NOMBRE SOUCHES	% DE RESISTANCE AUX ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES					
				INH + SM	INH + Tb1	INH + RMP	S M + RMP	INH+SM + RMP	INH + SM+Tb1
1966	Côte d'Ivoire	DELORMAS (58)	130	-	14,7 %	-	-	-	-
1973	Sénégal	N'DIAYE (51)	16	6,2 %	6,2 %	-	-	-	-
1973-74	Côte d'Ivoire	ROUDAUT (58)	318	12,2 %	10,63%	-	-	-	-
1974	Sénégal	N'DIAYE (51)	32	9,3 %	6,2 %	-	-	-	-
1975	Sénégal	N'DIAYE (51)	116	16 %	14,3 %	-	-	-	-
1975-76	Mauritanie	VILLON (73)	90	23,0%	-	-	-	-	-
1976	Sénégal	N'DIAYE (51)	71	7 %	12,8 %	-	-	-	-
1977	Sénégal	N'DIAYE (51)	66	0 %	0 %	-	-	-	-
1978	Sénégal	N'DIAYE (51)	99	10 %	4 %	-	-	-	-
1981	Mali	SANGARE (60)	33	18,18%	-	-	-	1,4 %	-
1981-83	Togo	TOURE (70)	227	16,25 %	12,34%	10,78%	11,56%	0 %	11,56 %
1982	Mali	MAIGA (46)	58	5,17 %	-	-	-	-	-
1989-90	Mali	LE TRAVAIL	43	18,60%	13,95%	0 %	0 %	12,32 %	13,95%

L'efficacité de la lutte antituberculose tient à la qualité du dépistage bactériologique et au suivi correct d'un traitement efficace jusqu'à la guérison complète, le 2e aspect étant plus important que le premier car dans un pays ou dans une région donnés, il est inutile de découvrir des malades dont on ne peut assurer le traitement correct.

Si l'on considère la durée du traitement classique de 12 à 18 mois avec toutes ses conséquences : abandon prématuré du traitement, difficulté du suivi par le malade et les services de santé, mobilité de la population, lassitude du malade, tous facteurs ~~causant~~ de rechutes et d'installation de résistances secondaires.

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 de nombreuses études :

Mitchison a apporté des acquisitions très remarquables dans ce domaine sur des enquêtes menées en Tanzanie et au Kenya (Communication de la 25e Conférence Mondiale de l'Union Internationale Contre la Tuberculose à Buenos Aires 15-18 Décembre 1982) Pendant 2 mois on a donné quotidiennement I.N.H. - Streptomycine - Rifampicine - Pyrazinamide et pendant les 4 mois suivants I.N.H.- Tb1 ou I.N.H. seul pendant 4 ou 6 mois. Ainsi sur les 194 malades suivis, il a été enregistré seulement 3 % d'échec thérapeutique.

Une enquête coopérative d'un groupe de travail algérien et du British Medical Research Council, a comparé un régime de 6 mois de chimiothérapie courte et un régime quotidien d'une durée conventionnelle de 12 mois (5). Ces malades ont reçu l'un des 2 régimes suivants :

- soit le régime de 6 mois : Rifampicine et Isoniazide donnés en association dans un même comprimé, tous les jours pendant 6 mois, avec un supplément quotidien d'éthambutol et de pyrazinamide pendant les 2 premiers mois.

- soit le régime de 12 mois : isoniazide et éthambutol, donnés en association dans un même comprimé tous les jours pendant 12 mois, avec un supplément quotidien de Streptomycine pendant le premier mois (5).

Au bout de 3 ans sur les 455 malades (dont 226 ayant reçu un régime de 6 mois et 229 un régime de 12 mois) analysables après 3 ans, les résultats obtenus avec le régime de 6 mois sont **significativement** meilleurs que ceux obtenus avec le régime de 12 mois. Pour les malades à bacilles sensibles, il n'y a aucun échec pendant la chimiothérapie et seulement 4 rechutes (3%) après la chimiothérapie avec le régime de 6 mois, alors qu'il y a 32 échecs et rechutes (21 %) avec le régime de 12 mois.

L'efficacité des régimes courts de chimiothérapie de 6 à 8 mois pour le traitement de la tuberculose pulmonaire a été démontrée par des essais thérapeutiques dans de nombreux autres pays (67) (Afrique Orientale, Hong-Kong, Argentine, Brésil, France, Royaume-Uni, République Démocratique Allemande).

Au Mali depuis 1985, 2 régimes courts sont appliqués dans le traitement des malades tuberculeux bacillifères (61) :

- un régime de 8 mois destiné aux malades jamais traités (groupe I) :
2 R H Z S / 6 TH.

- un régime de 6 mois destiné aux malades devant subir un retraitement (groupe II)
2 R H E Z S₃ / 3 R₃ H₃ E₃.

.../....

Ces régimes courts ont été appliqués par 6 centres de traitement et ont donné des résultats satisfaisants à tous égards.

Sur 1.073 malades traités par ces régimes, seuls 151 (14 %) ont été défaillants et n'ont pas suivi le traitement jusqu'au bout.

Ces abandons semblent avoir eu lieu, dans la majorité des cas, après les phases intensives de 2 et 3 mois, ce qui permet de supposer que la plupart de ces malades sont négatifs ou décédés. Des 547 qui ont terminé leur traitement 540 (98,7 %) ont été guéris (61).

Enfin, la tolérance et l'acceptabilité des 2 régimes ont été excellentes et aucun cas d'arrêt du traitement pour toxicité ou effets indésirables notables n'a été noté.

Sangaré concluait en affirmant que l'utilisation de ces régimes par tous les centres de traitement "bien tenus" aura un impact notable à court terme sur l'endémie tuberculeuse au Mali.

Un autre point à souligner est l'indication de l'antibiogramme. A la lumière de nouveaux schémas thérapeutiques associant plusieurs drogues, il permet au plan individuel de vérifier la sensibilité de la souche devant une rechute ou un échec thérapeutique. Au plan collectif son intérêt consiste à avoir une idée d'ensemble sur la sensibilité des souches dans un pays ou dans une région donnés.

A cet égard il est intéressant de noter que les études de Mitchison (présentées à la 25e Conférence Mondiale de l'U.I.C.T à Buenos Aires en 1982), ont montré qu'une résistance simple à l'INH ou à la Streptomycine a peu d'effet néfaste sur la réussite du traitement. Par contre, une résistance double à l'INH et streptomycine expose à des échecs lors des polychimiothérapies conformément au tableau suivant :

SOUCHES RESISTANTES A	MALADES TRAITES	ECHEC DU TRAITEMENT
I N.H. seul	21	0 / 21
Streptomycine seule	32	0 / 32
I.N.H. et S.M.	22	8 / 22

Nos résultats montrent qu'au Mali 18,60 % des malades non traités sont infectés par des souches résistantes doubles à l'I.N.H. et à la Streptomycine. Il y a une forte augmentation de ce taux puisque Maïga dans sa thèse (46) trouvait 5,17 % en 1982.

Par ailleurs les monorésistances ou polyrésistances incluant la Rifampicine compromettent également l'efficacité des régimes de retraitement. Dans notre étude nous en avons trouvé 1 sur 43 malades étudiés.

Il s'agissait d'ailleurs d'une polyrésistance à l'I.N.H. - S.M. - R.M.P.
Ce malade a d'ailleurs fini par mourir.

/// O N C L U S I O N

A l'issue de cette étude sur la résistance primaire du bacille tuberculeux au Mali, entreprise à Bamako au Laboratoire de Bactériologie de l'I.N.R.S.P. sur des prélèvements provenant de l'Hôpital du Point G et du D.A.T., nous avons obtenu les résultats suivants :

- 310 crachats positifs sur 460 prélèvements, soit 67,39 %
- 226 cultures positives sur 310 crachats positifs à la bascilloscopie directe, soit 72,90 %.
- l'antibiogramme réalisé sur 60 souches a donné un taux de résistance primaire à l'Isoniazide de 23,26 % , à la Streptomycine de 20,93 % , à l'Isoniazide et à la Streptomycine de 18,60 % (I.N.H. et/ou S.M. de 23,26 %), et à la Rifampicine de 2,33 %.

Alors que, selon Mitchison, la résistance simple à l'Isoniazide seul ou à la Streptomycine seule influe peu sur l'efficacité de la chimiothérapie de courte durée, une résistance double Isoniazide Streptomycine réduit assez considérablement l'efficacité de ce régime.

Au Mali, le taux de cette double résistance après avoir subi une baisse en 1982-1983 avec un taux de 5,17 % a tendance à augmenter et à se stabiliser autour de 20 % car il était de 20,8 % en 1981 - 1982, et il est à présent de 18,60 %.

Par rapport à d'autres pays de la sous-région, à part la Mauritanie, le Mali montre un taux actuel de résistance double à l'Isoniazide et à la Streptomycine plus élevé.

Tous les efforts doivent être consentis dans le cadre du dépistage et de la prise en charge du malade pour éviter l'augmentation et l'extension de cette double résistance, la chimiothérapie de courte durée étant appelée à se généraliser dans notre pays

Il est également important de surveiller le taux de résistance à la Rifampicine Mais il est heureux de constater que ce taux n'a pas encore atteint de proportion inquiétante car il est de 2,33 %. Pour la plupart des pays le taux de résistance global à ce médicament est inférieur à 5 %.

Ce travail qui a débuté en Février 1989 et que nous espérons poursuivre, n'est que la continuité d'études commencées en 1972 sur la nature et la sensibilité des bacilles tuberculeux au Mali.

Les études doivent être poursuivies en vue d'un contrôle épidémiologique plus sûr, grâce à la connaissance du taux et de la nature de la résistance primaire dans notre pays, donnée essentielle permettant d'apprécier l'efficacité de la lutte antituberculeuse et d'une maîtrise des phénomènes de résistance à l'échelle nationale.

*

*

*

B I B L I O G R A P H I E



I B L I O G R A P H I E

1. - AGUIS (E.) : An uncommon pathogenic mycobactérium.
Arch. Inst. Pasteur, Tunis, 1956, 33, 245 - 257.
2. - ALBERT (J.P.), MENARD (M.), RETIF (M.) : Résultats des antibiogrammes pratiqués sur les mycobactéries isolées au Centre Muraz en 1967 - 1968.
Méd. Af. Noire, 1969, 16, 425 - 426.
3. - BARKSDALE (L.), KIM (K S.) : Mycobactérium.
Bact. Rev. 1977, 41, 217 - 372.
4. -- BARRY (V.C.) : Development of the chemotherapeutic agent for tuberculosis.
In : Barry V.C.
éd. Chemotherapy of tuberculosis Butterworth, London, 1964, P.46
5. - BERKANI (M.), CHAULET (P.), DARBYSHIRE (J.H.) et al : Résultats d'un essai thérapeutique comparant un régime de 6 mois à un régime de 12 mois dans la tuberculose pulmonaire au Sahara Algérien.
Rev. Mal. Resp. 1986, 3, 73 - 85. Masson, Paris 1986.
6. - BOISVERT (H.) : Action de l'acide pyruvique sur la croissance et l'antibiogramme des mycobactéries.
Rev. tub., Paris, 1970, 34, 117 - 124.
7. - BOISVERT (H.) : Identification de Mycobactérium bovis, B.C.G et Mycobactérium microti.
Ann. Inst. Pasteur, 1966, III, 180 p.
8. - BOISVERT (H.) : L'ulcère cutané à Mycobactérium ulcérans, Etude bactériologique.
Bull. soc. Path. exo ; 1977, 70, 125 - 131.
9. BONICKE (R.) : Die differenzierung humaner und boviner tuberkel bakterien mit Hilfe von thiophen-2 carbonsäure Hydrazid.
Natur Wissen schaften, 1958, 45, 392 - 393.
10. BUHLER (V.B.), POLLAK (A.) ; Human infection with atypical acid fast organism report of two cases with pathological findings.
Am. J. Clin. Pathol. 1953, 23, 362 - 374
11. CANNETTI (G.), GROSSET (J.) et CETRANGOLO (A.) : Une simplification technique de la méthode des proportions pour Tests de sensibilité du bacille tuberculeux : l'emploi d'une anse de platine.
Arch. Inst. Alger, 1964, 42, 14 - 37

- 122.- CANNETTI (G.), GROSSET (J.) : Technique et indication des Examens bactériologiques en Tuberculose.
Tourelle. Edt., 1968 13 - 176.
- 13.- CANNETTI (G.) et GROSSET (J.) : Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. Méthodologie, critiques de résistance, Résultats, Interprétations. Rev. Tub. Pneum. 1963, 27, 217 - 272
- 14.- CASTETS (M.), BOISVERT (H.), GRUMBACH (F.) et al : Les bacilles tuberculeux du type africain,
Rev. Tub. Paris, 1968, 32, 179 - 184.
- 15.- CASTETS (M.), RIST (N.), BOISVERT (H.) : La variété africaine du bacille tuberculeux humain.
Méd. Afr. Noire, 1969, 16, 321.
- 16.- CLAVEL (S.) : Lysotypie du bacille tuberculeux dans quelques pays d'Afrique tropicale et en Guadeloupe. Rapports avec classification de Mycobacterium africanum.
Ann. Sclavo, 1975, 571 - 577.
- 17.- COMMISSION DE TRAITEMENT DE L'U.I.C.T. : La chimiothérapie de la tuberculose Considérations sur les médicaments antituberculeux et recommandations sur les régimes de chimiothérapie. Texte intégral du rapport présenté à la conférence mondiale de l'U.I.C.T. à Mexico en Septembre 1975.
- 18.- COMMISSION DE TRAITEMENT DE L'U.I.C.T. : Recommandation de l'U.I.C.T. concernant la chimiothérapie antituberculeuse.
- Bull. U.I.C.T. , 1983, 58, 2 - 166
- 19.- DE LEPIERRE (F.) : Chimiothérapie antituberculeuse.
- Encycl. Méd. Chir. Paris, thérapeutique, 1982, 25110 B.10
- 20.- DE SOUZA (Y.C.) : Contribution à l'étude bactériologique, épidémiologique et immunologique du Mycobacterium africanum
Thèse Doct. Méd. Dakar 1974, N°8.
- 21.- DREA (W.) et ANDREJEW (A.) : The metabolism of the tubercle bacilli.
Ch. C. Thoms. Publisher spring field's 1953.

22. - DUBOS (R.), MIDDLEBROOK (G.) : Média for tubercle bacilli-
Amer. Rev. Tuberc., 1947, 54, 204 - 212.
23. - DUVAL (J.) : Les antibiotiques tuberculeux et non tuberculeux.
Abrégé, Paris, 1980.
24. - FELDMAN (W.H.) and HINSHAW (H.G.) : Proceedings of the staff meetings of
Mayo clinic, 19, 593, 1944.
25. - FELDMAN (W.H.), DAVIES (R.), MOSES (H.E.), ANDEBERG (W.) An unuusual Myco-
bactérum isolated from sputum of a man suffering, from pulmonary
disease of a long duration.
Amer. Rev. Tub. 1943, 8, 83 - 93
26. - GENTILINI (M.) DUFLO (B.) : Médecine tropicale.
Flam Méd Sciences, Paris 1977, 561 p.
27. - GERBEAUX (J.), BROCARD (H.) ISRAËL-ASSELAIN et al : Table ronde sur les
infections à mycobactéries atypiques chez l'enfant et chez
l'adulte. Cah. Coll. Méd. Hôp., Paris 1969, 10, 119
28. - CERNEZ - RIEUX (Ch.) : La tuberculose humaine d'origine bovine.
Colloque du Congrès National de Tuberculose, Lyon, 1966.
Poumon et Coeur, 1966, 22, 1133 - 1197.
29. - GRIESBACH (R.) : La vaccination par le B.C.G
Flammarion, Paris, 1954
30. - GROSSET (J.) et BENEASSINE : La thiacétazone (T.B.1) : données expérimen-
tales et cliniques récentes.
Adv. Tub. 17, 107 - 153.
31. - GROSSET (J.), SANGARE (S.), RIST (H.), MEYER (L.) : Caractères cultureux et
biochimiques des bacilles tuberculeux isolés chez 230 tuberculeux
pulmonaires au Mali.
Bull. U.I.C.T., 1974, 49, n°2 190 - 200.
32. - GROSSET (J.), TRUFFOT PERNOT (CH.), BISMUTH (R.) et LECOEUR (H.) : Données
récentes de la chimiothérapie de la tuberculose expérimentale
de la souris.
Bull. U.I.C.T., 1983, Vol. 58, n°2 90 - 96.

33. - HAUDUROY (P.) : Inventaire et description des bacilles paratuberculeux.
Masson et Cie, Ed. 1946, Paris.
34. - HUET (M.), RIST (M.), BOUBE (C.) et Coll. Etude bactériologique de la tuberculose au Cameroun.
Rev. Tub. Paris, 1971, 35, 413 - 426.
35. - JAWETZ (E.), MELNICK (J.L.), ADELBERG (E.H.) : Microbiologie médicale
Lib. Maloine S.A. éd., Québec, Paris 239 p.
36. - KONNO (K.), KURZMAN (R.), BIRD (K.I.) : Différenciation, of human tubercle bacilli from stypical acid fast bacilli I-niacin production clinical application.
- Am. Rev. Resp. Dis. 1958, II, 669 - 680.
37. - KONNO (K.) : New chemical method to differentiate human type tubercle bacilli, other mycobactéries.
Sciences, 1939, 124, 985.
38. - KOUMARE (B.) : Contribution à l'étude de la réduction des nitrates chez les Mycobactéries.
Thèse Doctorat d'Etat es Sciences Pharmaceutiques, 1977, Paris;
39. - KOUMARE (B.), TRUFFPOT (C.) et GROSSET (J.) : Les espèces mycobactériennes isolées chez les tuberculeux pulmonaires au Mali et leur sensibilité aux antibiotiques.
40. - KRASNOW (I.), WAYNE (L.G.) The mortality rate of tubercle bacilli in various digestion systems.
Am. J. Clin. Patho. 1966, 45, 352 - 358.
41. - KREISS (B.) : Résistance et survivance du bacille tuberculeux aux médicaments antibacillaires.
Masson Edit., Paris, 1966, 734 p.
42. - LEDERER (E.) : The mycobactérial cell. wall.
Pure appl. chem 1971, 25, 135 - 165

- 43.- LEMINOR (L.) et VERON (M.) : Bactériologie médicale
Flam , Paris, 1982, 2e Ed.
44. LE PETIT ; La tuberculose, 1, 8 - 151.
- 45.- LEVRAUD (J.), BOMARD (D.) : A propos de 266 cas de tuberculose chez des Noirs
africains transplantés en France et traités dans les Bouches du Rhône
Méd. Af. Noire, 1969, 2, 355 - 365.
- 46.- MAIGA (M.D.) : Nouvelle contribution à l'étude bactériologique de la tubercu-
lose pulmonaire au Mali.
Thèse Pharm. Bamako, 1982, 52 p.
- 47.- MEISSNER (G.) et al : A cooperative numerical analysis of non scoto and non
photochromogenic slowly growing Mycobacteria.
I. gen. Microbiol, 1974, 83, 470
- 48.- MEYER (L.) et HUGO (D.) : Mycobactériologie en Santé Publique.
Inst. Past. Paris 1980
- 49 - MIDDELBROOK (G.) COHN (M.I.) : Bactériology of tuberculosis Laboratory method
Am , HJ. Publi. Meth , 1958, 48, 844.
- 50 - MYER (L.) : Evolution, caractères et signification épidémiologique de la résis-
tance primaire du bacille tuberculeux en France de 1962 à 1972.
Thèse Med. paris, 1974.
- 51.- N'DIAYE (I.) : Surveillance et évolution des résistances aux antituberculeux
des Mycobactéries humaines isolées à Dakar (1973 - 1978).
Thèse Med. Dakar, 1979, n°51.
- 52.- O M S : Programme mondial de lutte contre le Sida et la tuberculose.
- L'Objectif médical, 37, 1989, 4 - 6.
- 53 - PEQUIGNOT (H.) : Pathologie médicale.
MASSON - EDISEM, Paris, Québec, 1975, 1658 p.
- 54.- PENSO (G.) : Premier Colloque International sur les Mycobactéries
P.G. Jarssens édit., Anvers, 1959, 52- 70.

- 55.- PROSKAUER und BECK : Beitrage Zum Ernährung. Physiologie und anderer säurefesten baxillen.
Deut. Med. Woch. 1984, 18, 128 - 152.
- 56.- QUENUM (C.), N'DIAYE (P.D.), UM (J.) : La tuberculose au Sénégal à travers les documents anatomo-pathologiques.
Rev. Afr. Noire 1969, 4, 359 - 365
- 57.- REY et VILLON (A.) : Etude bactériologique succincte des souches de bacilles tuberculeux isolées dans la région de Bobo-Dioulasso en 1975 et 1976. Doc. Tech. O.C.C.G.E. n°6597, 1977.
- 58.- ROUDAUT (M.), TIENDREBEOGO (M.), SCHMIDT (D.), DELORMAS (P.) :
La résistance initiale du bacille de KOCH en Côte d'Ivoire.
Rev. Frse Mal. Resp. 1977, 5, 683 - 696.
- 59.- SANGARE (S.) : Cours régional supérieur d'épidémiologie et de lutte contre la maladie. Le programme national antituberculeux.
Section de la tuberculose et des immunisations.
Dir. Nat. Sant. Pub., 1984, Bamako 1 - 43
- 60.- SANGARE (S.) : Nouvelle contribution à l'étude bactériologique de la Tuberculose au Mali, Thèse Pharm. Bamako, 1981.
- 61.- SANGARE (S.) : Résultat du traitement court de la tuberculose au Mali.
Section de la tuberculose et des immunisations.
Dir. Nat. Sant. Pub. 1988, Bamako, 1 - 13
- 62.- SARRAT (H.) : Infections à Mycobactéries au Sénégal. Aspects biologiques
Monographie Inst. Past. Dakar, 1972, 210 p.
- 63 - SCHATZ (A.) et al. : Proceedings of the society for Expérimental Biology and Medecine, 55, 66, 1944.
- 64 - SEBALD (M.) et al. : Technique en bactériologie : Anaérobies, Mycobactéries Virologie. Paris, Ed. Flammarion. Méd. Sc 1973, 113 - 233.
- 65.- SINGARE (B.) : Aspects bactériologiques de la tuberculose pulmonaire à Bamako, Mémoire pharm. Bamako, 1980, 102 p.

- 66.- TISON (F.), CARBONNELLE (B.) : Recherche, isolement et étude du bacille tuberculeux et des autres mycobactéries en pratique courante 1972 p.66.
- 67.- TOMAN (K.) : Dépistage et chimiothérapie de la tuberculose, Questions et réponses 1980, p. 79.
- 68.- TOUNKARA (B.) : Contribution à l'étude de la place que doit occuper la Rifampicine dans le traitement de la tuberculose pulmonaire au Mali, Thèse Med. 1983, 83 p.
- 69.- TOURE (I.M.), SANGARE (S.), DOUMBIA (S.) : Etude bactériologique de 235 expectorations provenant du service national de la tuberculose de la République du Mali.
Doc. Tech. O.C.C.G.E. n°8234 - 1983.
- 70.- TOURE (I.M.), TIDIANI (O.), AMEDOME (A.) et Coll. : Etude des résistances initiales des bacilles tuberculeux isolés d'expectorations de malades atteints de tuberculose pulmonaire du service de pneumophtisiologie du CHU de LOME (Rép. du TOGO).
Med. Af. Noire, 1987, 34, 5, 429 - 442.
- 71.- TOURE (I.M.) : The situation regarding Mycobactérium africanun in West Africa. Rapport au Congrès de l'U.I.C.T.
Prague, 1980, Doc. Tech. O.C.C.G.E. - 1980 7533/166 B.10-CM.
- 72.- UNION INTERNATIONALE CONTRE LA TUBERCULOSE : Guide Technique concernant le recueil, la conservation, le transport et l'examen des crachats pour le diagnostic de la tuberculose par microscopie directe, Paris, 1977, 2e éd., 28 p.
- 73.- VILLON (A.), REY (J.L.), SALIOU (P.), RENAUDET (J.), BONEL (J.) : Etude bactériologique de la tuberculose en Mauritanie. Identification et sensibilité aux antibiotiques des souches isolées (1976).
- Doc. Tech. O.C.C.G.E. n°6236.
- 74.- WEED (L.A.), KARLSON S(A.G.), IVINS (J.C.), MILLER (R.H.) : Recurring migratory chronic osteomyelitis, associated with saprophytic acid fast bacilli. Report of case of 10 years duration apparently cured for surgency.
Proc. Staff. Meet. May Clin. 1956, 31, 238 - 246.

- 75.- WHITEHEAD (J.E.M.), WILDY (P.) ENCEACK (H.C.) : Arysulfatase activity of Mycobactéria.
J. Patho. Bact. 1953, 65, 451 - 460
76. - WHO Technical Repart Series, N°552, 1974 (Ninth report of the WHO Expert Committee on tuberculosis) pp 14 & 25.
77. - WHO : Technical Report Serie, N°607, 1977 (Fifth report of the WHO. Expert Committee in Leprosy).
- 78.- YATES (M.D.) et COLLINS (C.M.) : Identification of Tubercle bacilli.
Ann Microbiol. (Inst. Pasteur), 1979, 130 B. 13 - 19.
- 79.- YOUNG (G.P.), WILLISTON (E.H.), FELDMAN (W.H.), HINSCHAW (H.C.) :
Increase in resistance of tubercle bacilli streptomycin preliminary report.
Proc. Staff. Meet. Maye Clin. 1946, 21, 126 - 127
- 80.- ZELLER (E.A.), OWEN (C.A.) : Enzymology of the genus mycobactérium Adv.
Tub. Resp. 1951, 4, 39 53

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art 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

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.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art 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

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.