

Ministère de l'Enseignement Supérieur

Et de la Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI

UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

UNIVERSITE DES SCIENCES DES
TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES
DE BAMAKO



FACULTE DE MEDECINE ET
D'ODONTO-STOMATOLOGIE



ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020

N°.....

TITRE

EVALUATION PRELIMINAIRE DE LA PCR
MULTIPLXE DANS LE DIAGNOSTIC DE LA
TUBERCULOSE CHEZ LES PATIENTS
CO-INFECTES PAR LE VIH A BAMAKO

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 06/10/2020 devant la

Faculté de Médecine et d'Odontologie.

Par : M. Ibrahim B DIALLO

**Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine
(Diplôme d'Etat).**

Jury

Président : Pr. Souleymane DIALLO

Membre : Dr. Traoré Aïssata CISSE ;

Membre : Dr. Ousmane KODIO

Co-directeur : Dr. Bocar BAYA

Directeur de thèse : Pr. Yacouba TOLOBA

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

Je dédie ce modeste travail

❖ **A ALLAH**

Le tout puissant, le très miséricordieux, le très haut, le clément. J'implore votre pardon et prie pour que vous nous assistiez dans nos actes quotidiens. Gloire à Dieu, l'omniscient, l'omnipotent de m'avoir permis de mener à bien ce travail et de voir ce grand jour.

❖ **Au Prophète Mohamed**

Le premier et le dernier prophète, que le salut, la paix et la bénédiction de Dieu soient sur lui ainsi que sa famille et ses fidèles compagnons.

❖ **A mon très cher père Boubacar Diallo**

De tous les pères, tu as été et tu seras toujours un exemple pour nous. Tu as été pour moi un modèle à suivre pour tes qualités humaines, ta persévérance et ton perfectionnisme. Tu as joué plus que ton rôle de père malgré les différents problèmes auxquels tu étais confronté. Tu t'es toujours battu pour me donner les valeurs nobles de la vie, le sens du travail, l'honnêteté et la responsabilité.

Je prie pour que Dieu te préserve des malheurs de la vie afin que tu demeures toujours ce guide infatigable qui a illuminé mon chemin. J'aimerais pouvoir te rendre tout l'amour et la dévotion que tu m'as offerts, mais une vie entière n'y suffirait pas. Sache qu'aujourd'hui je te dis ce que j'ai toujours voulu te dire, tu es mon héros et sache que ce travail est ton œuvre.

❖ **A ma très chère mère Kadidia Dembélé**

A la personne que j'aime le plus au monde, à celle qui m'a tout donné et à qui je dois tout. Ton encouragement, tes prières, tes bénédictions, ton amour et ta présence constante tout au long de mes études m'ont été d'un grand soutien jusque-là.

J'implore Allah de te donner une longue vie pleine de santé afin de voir tous tes enfants réussir un jour. Puisse Dieu te protéger du mal et m'aider à te compenser tous les malheurs passés. Je te dédie cette thèse qui concrétise ton rêve le plus cher. Elle n'est que le fruit de tes conseils et de tes encouragements. Les mots me manquent et j'espère que tu trouveras dans ce modeste travail un témoignage de mon amour, ma gratitude, ma profonde affection et mon respect. Je t'aime de tout mon cœur maman.

❖ A mes grands-parents feu Drissa Dembélé, feu Djibril Diallo et feu Hawa Magassouba

Vous qui avez toujours aimé prendre soins de vos enfants et petits-fils, vous les infatigables conseillers et éclaireurs de nos vies. Sachez que je me battrais à mon tour pour enseigner les mêmes valeurs à mes enfants de noblesse, l'éducation, la dignité, la persévérance, le sens du travail et l'honneur. Comme j'aurais voulu que vous soyez là pour partager ce moment de joie. Puisse Dieu vous alléger la terre, accorder sa miséricorde et vous accueille dans son paradis. Reposez en paix car vous demeurerez le flambeau qui illuminera mon chemin.

❖ A mes grands-mères Niba dite Mah Sinayogo et Korotoumou Koné

Je m'adresse à vous mes très chères femmes, mes premières et mes dernières, celles qui m'ont aimé sans rien attendre en retour, cette thèse est la vôtre.

Votre amour, vos prières, vos bénédictions et vos encouragements m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. J'ai donné le meilleur de moi-même pour que vous soyez fières de moi aujourd'hui. Vous êtes pour moi une source de sagesse et il n'y a aucun mot qui suffit pour vous remercier assez, je vous aime énormément et je suis vraiment très fière

d'être votre petit fils. J'implore Dieu de vous donner longue vie et bonne santé pour que nous puissions pleinement profiter de votre présence.

❖ **A toutes mes tantes**

Je ne saurai jamais vous remercier à juste valeur, merci à vous toutes principalement à Djénebou Dembélé et Hawoye Dembélé pour votre disponibilité, vos conseils, vos bénédictions, vos soutiens et encouragements. J'espère à travers ce travail vous symbolise l'estime, le respect, l'amour, la reconnaissance et mon admiration à votre égard. Tous mes vœux de bonheur et de santé.

❖ **A tous mes oncles et papas**

Vous avez joué plus que votre rôle malgré les différents problèmes auxquels vous étiez confronté. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, Vous qui m'avez toujours soutenu et encouragé. En témoignage de mon attachement et de ma grande considération, j'espère que vous trouverez à travers ce travail l'expression de mes sentiments les plus chaleureux.

❖ **A mes frères et sœurs Alassane B Diallo, Mohamed B Diallo, Moustaph Dicko, Kadiatou Koné, Korotoumou Dembélé et Hawa B Diallo**

Vous avez été toujours là pour m'épauler, partager mes peines et me donner la joie de vivre. Merci de vos soutiens et vos encouragements, puisse le lien fraternel être indéfectible et que jamais nous ne soyons désunis.

❖ **A tous mes cousins et cousines**

Vous avez aussi votre part de contribution dans ce travail. Votre sympathie et votre courtoisie n'ont pas fait défaut. Puisse Dieu renforcer ce lien qui nous a toujours uni.

❖ **A mon grand frère du Point G Abdramane Samaké**

Tu as toujours été un grand frère et continue de l'être, tu as fait en sorte que je ne manque de rien et m'as donné l'impression d'être toujours à la maison. Tu as souhaité que je réussisse et voici le fruit de tes conseils et encouragements. Merci infiniment pour tout ce que tu as fait pour moi, cher frère je ne t'oublierai jamais.

❖ **A tous mes amis(es) de près ou de loin**

L'amitié n'a pas de prix, jamais je ne trouverai les mots exacts pour vous exprimer tout l'affection, l'admiration et la fierté que j'ai pour notre amitié. Merci pour la joie et les peines partagées et surtout pour m'avoir appris à garder en toute circonstance le sourire, signe de l'espoir.

❖ **A mon binôme thésard Djakaridja Daniogo**

Merci pour ton amitié, les services rendus et la bonne collaboration. Bonne chance à nous pour la suite.

❖ **A mes chers maîtres Dr Bocar Baya, Dr Patrice Bidongo**

Dembélé, Dr Yeya dit Sadio Sarro, Dr Mamoudou Maïga, Dr Bassirou Diarra, Dr Ousmane Kodio, Dr Issiaka Camara, Dr Mohamed Tolofoudie

Vos qualités humaines et votre franche collaboration nous ont beaucoup impressionnées. J'avoue avoir reçu de vous un encadrement exemplaire. Plus que mes chefs, vous avez été pour nous des grands conseillers. Merci à vous tous pour votre disponibilité, vos conseils et vos soutiens. Votre

humanisme et votre amour pour le travail sont des qualités à suivre. Vous avez initié ce travail qui est le fruit de votre volonté de parfaire. Longue vie pleine de bonheurs et d'opportunités à vous tous.

❖ A tout le personnel de l'UCRC/SEREF0

Merci infiniment pour l'accueil, la formation, le courage, l'encouragement et la bonne collaboration.

❖ A tous les participants de l'étude

Puisse l'espoir d'un traitement radical et d'un vaccin efficace contre le VIH et la tuberculose être une réalité un jour pour le bonheur de tous. Prompt rétablissement à vous tous.

❖ A tous ceux qui méritent d'être cités et qui ne l'ont pas été

Vous n'êtes pas moins importants, l'œuvre humaine étant imparfaite, nous vous prions de ne nous excuser.

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Souleymane DIALLO

- Professeur Titulaire de Pneumologie à la FMOS ;
- Président de la Société Malienne de Pneumologie (SOMAP) ;
- Président de l'Association pour la Formation continue en Allergologie (ANAFORCAL) ;
- Ancien chef du Service de Pneumo-phtisiologie du CHU Point-G ;
- Colonel Major de l'Armée Malienne à la retraite ;
- Chevalier de l'Ordre National du Mali ;
- Ancien Directeur du Centre de Recherche et de Formation sur le VIH et la Tuberculose au (CEREFO/SEREFO).

Cher Maître

Vous nous avez accordé un grand honneur en acceptant de présider le jury de notre thèse. Nous avons eu la chance et le privilège de travailler sous votre direction, de profiter de votre culture scientifique, vos compétences professionnelles incontestables ainsi que vos qualités humaines qui vous valent l'admiration et le respect. Puissent des générations et des générations avoir la chance de profiter de votre savoir qui n'a d'égal que votre sagesse et votre bonté. Veuillez, Cher Maître, trouvé dans ce modeste travail l'expression de notre haute considération et notre profond respect pour avoir guidé les premiers pas de notre carrière.

A notre Maître et juge

Docteur Traoré Aïssata CISSE

- Docteur en Pharmacie ;
- Master 2 en Immunologie à l'Université de Paris 11;
- Attaché de recherche à l'INSP;
- Candidate au PhD à l'école doctorale des sciences et technologies du Mali (EDSTM) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (Science Microbiologie, Immunologie);
- Responsable de Laboratoire National de Référence de la Tuberculose, Service de Bactériologie, Institut National en Santé Publique (INSP).

Cher Maître

Nous sommes très heureux de votre présence dans ce jury. Vous avez accepté de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Votre abord facile et votre objectivité ont largement contribué à renforcer la qualité de ce travail. Ce qui nous a permis d'apprécier la grandeur de votre personnalité. Permettez-nous cher maître de vous exprimer nos sincères remerciements et nos sentiments respectueux.

A notre Maître et juge

Docteur Ousmane Kodio

- Maîtrise en Biochimie-Microbiologie ;
- Sortant de l'Ecole Normale Supérieure, Section : Biologie ;
- DEA en Microbiologie Appliquée ;
- PhD en Bactériologie-Virologie ;
- Responsable du laboratoire de Microbiologie au Laboratoire National de la Santé.

Cher Maître

Nous apprécions à sa juste valeur vos qualités humaines, votre courtoisie, votre sympathie qui témoignent votre grande disponibilité à l'endroit des étudiants. Nous sommes très touchés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans ce jury. Cela dénote de tout l'intérêt que vous accordez à ce travail. Vos remarques et suggestions ont beaucoup contribué à l'amélioration de la qualité de ce travail. Soyez en rassuré de notre respect et de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et Co-directeur de thèse

Docteur Bocar BAYA

- Master en science d'investigation clinique ;
- Praticien hospitalier au CHU du Point G ;
- Certificat en Bio Statistique ;
- Certificat en prise en charge des résistances aux antituberculeux,
- Candidat PhD en santé publique à l'école doctorale des sciences et technologies du Mali (EDSTM).

Cher Maître

Nous avons eu le privilège de travailler sous votre direction et avons trouvé auprès de vous le guide et le conseiller qui nous a reçu en toutes circonstances avec sympathie, sourire et bienveillance. Votre probité au travail et votre dynamisme, votre sens de responsabilité nous ont toujours impressionnés et sont pour nous un idéal à atteindre. La clarté de vos enseignements associée à la rigueur de l'homme de science que vous êtes ont permis la réalisation de ce travail. Nous espérons être dignes de votre confiance, et nous vous prions, cher Maître, d'accepter notre profonde reconnaissance et notre haute considération. Nous vous remercions de la spontanéité et de la simplicité avec lesquelles vous avez accepté de diriger ce travail.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Yacouba Toloba

- Pr Titulaire de pneumo-phtisiologie ;
- Chef de service de pneumo-phtisiologie CHU-Point G;
- Membre de la Société Africaine de Pneumologie de la Langue Française (SAPLF);
- Secrétaire Générale de la société malienne de pneumologie (SOMAP);
- Secrétaire Générale de l'association nationale de formation continue en allergologie au Mali (ANAFORCAL).

Cher Maître

Vous nous avez honoré par votre confiance en nous confiant cet excellent sujet de travail. Les conseils fructueux que vous nous avez prodigué ont été très précieux, nous vous en remercions. Puisse Dieu vous donner la santé du corps pour davantage œuvrer pour l'amélioration de la qualité de formation et de la culture de l'excellence que vous avez toujours prôné. Votre bonté, votre modestie, votre compréhension, ainsi que vos qualités professionnelles ne peuvent que susciter notre grand estime et profond respect. Veuillez trouver ici, l'assurance de notre reconnaissance et notre profonde admiration.

LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS

3TC : Lamuvidine;

ADN : Acide Désoxyribonucléique ;

ARCAD/SIDA : Association de Recherche de Communication et d'accompagnement à Domicile des personnes vivant avec le VIH ;

ARV : Antirétroviraux ;

AZT : Zidovudine ;

BAAR : Bacilles acido-alcool-résistants;

BK+ : Positif au Bacille de Koch ;

CESAC : Centre d'Ecoute, de Soins, d'Animation et de Conseil ;

CMT : Complexe Mycobacterium tuberculosis;

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-acetic-Acid (Acide Ethylène Diamine Tétra-Acétique);

EFV : Efavirenz;

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Dosage Immunoenzymatique);

FMOS : Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie;

FAPH : Faculté de Pharmacie ;

HRCT : Tomodensitométrie à Haute Résolution ;

IDV : Indinavir;

IFN : Interféron gamma ;

INNTI : Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse ;

INTI : Inhibiteur Nucléosidique de la Transcriptase Inverse ;

IP : Inhibiteur de protéase ;

L-J: Lowenstein-Jensen;

LPV: Lopinavir;

MAC: Complexe Mycobacterium Avium;

MNT : Mycobactérie Non Tuberculeuse ;

MTB : *Mycobacterium tuberculosis* ;

NAA : Nucleic Acid Amplification (Amplification d'Acide Nucléique);

NFS : Numération Formule Sanguine ;

NIH-NIAID : National Institutes of Health – National Institute of Allergy and Infectious Diseases (Instituts Nationaux de la Santé - Institut National des Allergies et des Maladies Infectieuses);

NVP : Nevirapine;

PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne ;

R : Ritonavir;

RR-TB : Tuberculose Résistante à la Rifampicine ;

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquis ;

SST : Serum Separation Tube (Tube de Séparation de Sérum) ;

TAR : Traitement Antirétroviral ;

TB: Tuberculose;

TB-MR: Tuberculose Multirésistante;

T CD4+ : Lymphocyte T CD4+;

TDF : Ténofovir;

TEP : Tuberculose Extra Pulmonaire ;

TNF α : Facteur de Nécrose Tumorale alpha ;

TPM + : Tuberculose Pulmonaire à Microscopie positive ;

UFC : Unité Formant Colonie ;

UCRC/SEREF0 : Centre de Recherche et de Formation sur le VIH et la Tuberculose ;

USTT-B : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako ;

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

SOMMAIRE

| | | |
|---------|--|----|
| 1 | INTRODUCTION | 20 |
| 2 | HYPOTHESE DE RECHERCHE ET OBJECTIFS | 23 |
| 2.1 | Hypothèse de recherche :..... | 23 |
| 2.2 | Objectifs de l'étude..... | 23 |
| 3 | GENERALITES | 25 |
| 3.1 | Tuberculose | 25 |
| 3.1.1 | Définition :..... | 25 |
| 3.1.2 | Forme clinique pulmonaire :..... | 25 |
| 3.1.3 | Critères de diagnostic bactériologique selon l'OMS et prise en charge au Mali :..... | 25 |
| 3.1.4 | Traitement :..... | 25 |
| 3.2 | VIH | 26 |
| 3.2.1 | Définition :..... | 26 |
| 3.2.2 | Stades du VIH :..... | 26 |
| 3.2.3 | Diagnostic biologique :..... | 27 |
| 3.2.4 | Traitement :..... | 29 |
| 3.3 | Les MNT | 30 |
| 3.3.1 | Définition :..... | 30 |
| 3.3.2 | Forme clinique pulmonaire :..... | 31 |
| 3.3.3 | Critères de diagnostic :..... | 31 |
| 3.3.3.1 | Clinique :..... | 32 |
| 3.3.3.2 | Critère Microbiologique :..... | 32 |
| 3.3.3.3 | Traitement :..... | 33 |
| 3.4 | Epidémiologie | 33 |
| 3.5 | Physiopathologie | 34 |
| 3.5.1 | TB et VIH :..... | 34 |
| 3.5.2 | MTN et VIH :..... | 35 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.6 | Description des outils de diagnostic de la tuberculose | 36 |
| 3.6.1 | Examen microscopique : | 36 |
| 3.6.2 | La culture des mycobactéries (MTB/MNT) :..... | 37 |
| 3.6.2.1 | Milieux solides : | 37 |
| 3.6.2.2 | Milieux Liquides : | 37 |
| 3.6.3 | Méthode de biologie moléculaire | 38 |
| 3.6.3.1 | Le Test Xpert MTB / RIF : | 38 |
| 3.6.3.2 | La PCR multiplexe :..... | 40 |
| 4 | METHODOLOGIE | 44 |
| 5 | RESULTATS | 53 |
| 6 | COMMENTAIRES ET DISCUSSION | 63 |
| | CONCLUSION | 68 |
| | RECOMMANDATIONS | 69 |
| | BIBLIOGRAPHIE | 71 |
| | ANNEXES | 77 |

RESUME

Nous avons réalisé une étude transversale sur 12 mois basée sur l'évaluation préliminaire de la PCR multiplexe afin de déterminer sa sensibilité et sa spécificité chez les patients co-infectés TB/VIH+ au Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC/SEREFO). Nous avons retenu 72 patients répartis en deux groupes dont 30 patients TB/VIH+ et 42 cas contrôles qui avaient une microscopie et une culture négative. Ces patients ont tous bénéficiés des techniques suivantes : l'examen microscopique après coloration par le FDA et l'auramine/rhodamine, le test Xpert MTB/RIF de GeneXpert®, la culture et la PCR Multiplexe.

La population masculine était la plus majoritaire avec 66,67%.

La sensibilité et la spécificité de la PCR Multiplexe observée par rapport à la culture étaient respectivement de 76,67% et de 95,24%.

ABSTRACT

We performed a 12-month cross-sectional study based on the preliminary evaluation of multiplex PCR to determine its sensitivity and specificity in TB / HIV + co-infected patients at the University Center for Clinical Research (UCRC / SEREFO). We selected 72 patients divided into two groups, including 30 TB / HIV + patients and 42 control cases who had a microscopy and a negative culture. These patients all benefited from the following techniques: microscopic examination after FDA staining and auramine / rhodamine, Xpert MTB / RIF test from GeneXpert®, culture and Multiplex PCR.

The male population was the majority with 66.67%.

The sensitivity and specificity of Multiplex PCR observed relative to culture were 76.67% and 95.24% respectively.

INTRODUCTION

1 INTRODUCTION

La tuberculose (TB) est une maladie contagieuse, endémo-épidémique, à transmission essentiellement interhumaine due au complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) (1). L'atteinte pulmonaire est la plus fréquente des localisations avec environ 75% soit 2/3 des cas et représente la source habituelle de transmission (2,3). A l'échelle mondiale, la TB est l'une des 10 principales causes de décès et la principale cause de décès dû à un agent infectieux (4).

La coïnfection TB et VIH forme une association mortelle avec un taux de décès estimé à 251000 dans le monde et 1,6/100000 habitants au Mali en 2018 (4,5). En effet l'immunodépression au VIH modifie l'expression classiques des symptômes et signes pouvant entraîner un retard dans le diagnostic (6,7).

Par ailleurs, il faut signaler d'autres infections comme celles liées aux mycobactéries non tuberculeuses (MNT) particulièrement chez les séropositifs au VIH. Les MNT sont des bactéries environnementales ubiquitaires (8). Cent quarante (140) espèces de MNT ont été répertoriées dont les plus fréquents dans les maladies pulmonaires sont le *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. abscessus* et *M. kansasii* (9,10). La plupart des espèces de MNT sont non pathogènes. Les manifestations cliniques sont pulmonaires dans 80 à 90 % des cas (7). Contrairement à la tuberculose pulmonaire, une transmission interhumaine directe de MNT a rarement été rapportée (10).

Le contrôle de la tuberculose exige un diagnostic et un traitement efficace de la maladie. Cependant, la microscopie pour la recherche des bacilles acido-alcoolorésistants (BAAR) est le diagnostic de première intention utilisé dans les pays en voie de développement comme le Mali. Cette technique de diagnostic est peu coûteuse, simple et rapide mais a une sensibilité faible d'environ 50% et ne permet pas discriminer les mycobactéries tuberculeuses des non tuberculeuses (11).

La culture des mycobactéries reste le gold standard, son seuil de détection est environ de 10 à 100 bacilles viables /ml d'échantillon dans plus de 80% des cas

de tuberculose active pour une spécificité est de 98 %. Cependant elle est lente, coûteuse et nécessite un laboratoire de niveau de sécurité élevée (12,13).

Pour pallier à ce problème, des techniques moléculaires ont été développées telles que le test Xpert MTB/RIF (14).

La PCR Multiplexe est une PCR en temps réel fait maison développée pour l'identification simultanée du Complexe Mycobacterium tuberculosis (CMT) et les Mycobactéries Non Tuberculeuse (MNT). Ce test est une PCR en temps réel couplé à une extraction par capture spécifique de l'ADN qui a déjà montré des résultats encourageants sur des souches de laboratoire (MTB et MNT). Dans cette étude il est question de l'évaluation préliminaire de ce test dans une population plus vulnérable à la tuberculose avec difficulté de diagnostic élevée.

Ainsi le but de cette étude est de faire une évaluation préliminaire de cette PCR multiplexe afin de dégager sa sensibilité et sa spécificité dans la détection de la tuberculose pulmonaire chez les patients co-infectés par le VIH à Bamako.

OBJECTIFS

2 HYPOTHESE DE RECHERCHE ET OBJECTIFS

2.1 Hypothèse de recherche :

La PCR multiplexe est aussi performante que la culture dans le diagnostic de la tuberculose pulmonaire chez les patients VIH+ à Bamako.

2.2 Objectifs de l'étude

Objectif général :

Réaliser une évaluation préliminaire de la PCR multiplexe dans le diagnostic de la tuberculose chez les patients tuberculeux co-infectés par le VIH à Bamako, Mali.

Objectifs spécifiques :

- ✓ Déterminer les caractéristiques sociodémographiques, cliniques et hématologiques des patients co-infectés par la tuberculose et le VIH à Bamako, Mali ;
- ✓ Déterminer la proportion de cas de tuberculose détectée par la PCR multiplexe chez les patients TB/VIH+ par rapport à la microscopie.
- ✓ Déterminer la proportion de cas de tuberculose détectée par la PCR multiplexe chez les patients TB/VIH+ par rapport à la culture.
- ✓ Déterminer la performance de la PCR multiplexe chez les patients TB/VIH+.

GÉNÉRALITÉS

3 GENERALITES

3.1 Tuberculose

3.1.1 Définition :

Maladie infectieuse et contagieuse provoquée par les mycobactéries du complexe tuberculosis comprenant différents germes principalement *M. tuberculosis* qui touche le plus souvent les poumons. Elle se transmet par des gouttelettes de sécrétions bronchiques lors de l'expectoration d'une personne atteinte de tuberculose-maladie (15).

Les espèces mycobactériennes appartenant au MTBC sont *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. suricattae* et *M. mungi* (16).

3.1.2 Forme clinique pulmonaire :

La tuberculose pulmonaire est la forme la plus fréquente d'environ 80% de tuberculose active et les symptômes les plus courants chez les personnes infectées par le VIH restent la toux, la fièvre, les sueurs nocturnes et une perte de poids significative (2,17).

3.1.3 Critères de diagnostic bactériologique selon l'OMS et prise en charge au Mali :

Deux frottis de crachats ou plus montrant des Bacilles acido-alcool résistants (BAAR) ou un frottis de crachat positif en plus des signes ou des symptômes compatibles avec une tuberculose pulmonaire active selon un médecin ou un frottis de crachat positif plus une culture positive pour *M. tuberculosis* (18).

3.1.4 Traitement :

Le schéma thérapeutique pour la prise en charge de la tuberculose chez les patients à germes sensibles est de **2 (RHZE)/4 (RH)**.

La phase initiale est 2 (RHZE), elle dure 2 mois et consiste à prendre une combinaison à dose fixe de l'isoniazide (H=5 mg/kg), de la rifampicine (R=10 mg/kg), du pyrazinamide (Z=25 mg/kg) et de l'éthambutol (E=20 mg/kg).

La phase d'entretien consiste à la prise quotidienne d'isoniazide et de rifampicine en association à doses fixes (19).

3.2 VIH

3.2.1 Définition :

➤ L'infection à VIH est causée par la pénétration du virus de L'immunodéficience dans l'organisme qui peut être asymptomatique pendant plusieurs années entraînant une production abondante de virus avant de détruire les défenses immunitaires ou sans développer une maladie clinique.

➤ Le sigle **SIDA** désigne le Syndrome d'Immuno Déficience Acquis (20).

3.2.2 Stades du VIH :

L'infection par le VIH passe par trois stades successifs qui sont :

- **La primo-infection** est le plus souvent asymptomatique et se caractérise par l'apparition fréquente de symptômes similaires à une grippe légère; une fièvre, des éruptions cutanées, une fatigue, des maux de tête, etc. Mais elles disparaissent spontanément après quelques semaines, car le système immunitaire réagit à l'agression des virus. Le risque de transmission s'avère particulièrement élevé durant la primo-infection en raison de la forte charge virale à ce stade de l'infection (21).

- **La phase de latence** : le sujet mène une vie normale durant cette phase en moyenne 10 ans et pendant ce temps, le virus se propage insidieusement dans l'organisme et malmène le système immunitaire en permanence jusqu'à son affaiblissement le rendant ainsi vulnérable aux infections opportunistes (21).

- **Sida** : A ce stade, le système immunitaire est tellement affaibli qu'il ne peut plus empêcher l'apparition de maladies graves, voire mortelles. On parle de SIDA en présence de certaines associations spécifiques de maladies. Il va de différents cancers à l'envahissement de l'œsophage par le champignon *Candida albicans*, en passant par certaines formes de pneumonie et la tuberculose. Après

déclenchement du SIDA et en l'absence de traitement, l'espérance de vie ne va plus que de quelques mois à trois ans (21).

3.2.3 Diagnostic biologique :

Le diagnostic est essentiellement biologique et basé sur des techniques immunologiques ou de biologie moléculaire car les signes cliniques n'apparaissent que très tardivement. Il se fait le plus souvent par dépistage des anticorps qui apparaissent généralement 3 à 8 semaines après l'infection. L'intervalle entre l'infection et l'apparition des anticorps décelables est appelé « période sérologiquement muette » ». Les anticorps sont beaucoup plus faciles à repérer que le virus lui-même. Il est parfois possible de mettre en évidence l'antigène du VIH pendant la période sérologiquement muette si, par coïncidence le test est effectué pendant la courte période où le taux de particules virales en circulation est le plus élevé (ELISA). Après avoir atteint ce maximum, le taux d'antigènes P24 chute fortement et n'est plus décelable (ELISA).

3.2.3.1 Techniques immunologiques:

➤ ELISA (Dosage Immuno-enzymatique):

C'est un test immunologique pour la détection des anticorps anti-VIH. C'est probablement le test le plus efficace quand il faut tester un grand nombre d'échantillons par jour. Pour que les résultats soient fiables, le matériel génétique doit être régulièrement entretenu. Le test est réalisé lorsqu'on doit rechercher l'anticorps d'une maladie ou d'une protéine de virus. Ce test permet de détecter l'IgM, les anticorps VIH précoces, outre l'IgG, et de réduire ainsi la période sérologiquement muette de 2-4 semaines (22,23). C'est une technique qui est difficile à mettre en œuvre dans les pays à ressources limitées car elle nécessite un personnel bien formé, un équipement de laboratoire sophistiqué, une configuration expérimentale plus longue et des réactifs coûteux (24).

➤ **Tests simples/ rapides :**

Les TDR ont montré des améliorations continues de la sensibilité et de la spécificité diagnostiques et les versions actuellement commercialisées se comparent favorablement aux tests ELISA. Ils ont été initialement développés sur le principe des réactions « d'immunofiltration ou d'agglutination ». Aujourd'hui, ces tests sont réalisés par des « méthodes immunochromatographiques (ICT), immuno-enzymatiques ou biochimiques ». L'ICT restant la méthode la plus populaire, ainsi nous avons :

- Determine™ HIV-1/2;
- Alere Determine™ HIV-1/2;
- Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo;
- SD Biotec™ HIV-1/2 (24,25).

Dans la plupart des formats, l'apparition d'un point ou d'un trait clairement visible indique un résultat positif. La plupart de ces tests comportent aussi un système de contrôle qui valide le résultat (22).

➤ **Western blot et immunoblot :**

Ce sont des tests de confirmation les plus répandus utilisant des protéines de synthèse et permettent de déceler les anticorps spécifiques anti VIH-1 et/ou anti VIH-2. Ce sont les plus répandus (22).

3.2.3.2 Techniques moléculaires :

Les tests utilisés permettent de mesurer le nombre de virus présents dans un échantillon de sang. Le test utilise une technique d'amplification des acides nucléiques, qui permet de déterminer le nombre de copies de VIH présentes dans un millilitre de plasma. Le test d'amplification des acides nucléiques consiste en une amplification du matériel génétique du virus lui-même ou d'une sonde qui s'est liée à ce virus. Une réaction chimique est ensuite utilisée pour mesurer la quantité d'amplification observée pendant le test, qui correspond à la quantité de VIH présente dans l'échantillon. La technique de mesure de la charge virale la plus couramment utilisée est la réaction de polymérisation en chaîne quantitative

soit (qPCR). Les autres techniques de mesure de la charge virale comprennent l'amplification du signal médiée par transcription et les techniques d'amplification du signal par l'ADN branché (26).

3.2.4 Traitement :

Parmi les ARV qui sont disponibles dans les pays d'Afrique subsaharienne y compris le Mali, on peut citer :

✓ **Les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) :**

Les plus utilisés sont la zidovudine (AZT), la lamuvidine (3TC), et le ténofovir (TDF).

✓ **Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) :**

Ce sont la nevirapine (NVP) et l'efavirenz (EFV).

✓ **Les inhibiteurs de protéase (IP)**

Les IP boostés avec du ritonavir sont utilisés en cas d'échec thérapeutique comme : indinavir/ritonavir (IDV/r), le lopinavir/ritonavir (LPV/r), atazanavir/ritonavir (AZV/r) ou possiblement non boostés, comme l'atazanavir ou le nelfinavir (27).

Pour le traitement antirétroviral (TAR) de première intention, il est recommandé d'utiliser des schémas thérapeutiques simplifiés, peu toxiques et faciles à utiliser en association d'ARV en doses fixes.

❖ **Un TAR de première intention** doit être composé de deux INTI et d'un INNTI.

L'option privilégiée recommandée pour mettre en route un TAR est :

- TDF + 3TC + EFV

Schémas thérapeutiques de remplacement :

- AZT + 3TC + EFV
- AZT + 3TC + NVP
- TDF + 3TC + NVP

❖ **Traitement antirétroviral de deuxième intention :**

Chez l'adulte, l'adolescent et l'enfant, il est recommandé d'utiliser comme stratégie privilégiée pour le TAR de deuxième intention une combinaison d'IP potentialisé + deux INTI lorsqu'un schéma contenant un INNTI a été utilisé comme TAR de première intention.

Schémas thérapeutiques privilégiés :

- AZT + 3TC + LPV/ra
- AZT + 3TC + ATV/ra

Schémas thérapeutiques de remplacement :

- TDF + 3TC (ou FTC) + ATV/r
- TDF + 3TC (ou FTC) + LPV/r

❖ **Traitement antirétroviral de troisième intention :**

- Nouvelles recommandations

Les programmes nationaux doivent élaborer des politiques pour le TAR de troisième intention. Les schémas thérapeutiques de troisième intention doivent comprendre de nouveaux médicaments qui présentent le minimum de risque de résistance croisée avec les schémas thérapeutiques utilisés précédemment, tels que les inhibiteurs de l'intégrase ainsi que les INNTI et les IP de deuxième génération. Un patient en échec thérapeutique sous TAR de deuxième intention pour lequel on ne dispose pas de nouvelle option d'ARV doit continuer à recevoir un schéma thérapeutique bien toléré (28).

3.3 Les MNT

3.3.1 Définition :

Les mycobactéries non tuberculeuses sont des mycobactéries environnementales sans transmission interhumaine (29). Les MNT sont divisées en espèces à croissance lente et à croissance rapide. Les maladies pulmonaires causées par les MNT sont considérées comme opportunistes et concernent fréquemment les patients atteints de maladies pulmonaires structurelles telles que la bronchite

chronique et l'emphysème, la bronchectasie, la fibrose kystique etc... (30). Les espèces les plus courantes causant une infection pulmonaire sont le MAC à croissance lente (composé de *M. avium*, *M. intracellulare* et *M. chimaera*), *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. xenopi* et le croissant *M. abscessus* (composé de *M. abscessus*, *M. a. massiliense*, *M. a. bolletii*), *M. chelonae* et *M. fortuitum* (16). Au Mali une étude réalisée entre 2004 et 2009 à Bamako, a enregistré 8 % de MNT chez les patients ayant une tuberculose chroniques parmi lesquels *M. avium*, *M. simiae* et *M. palustre* ont été les espèces les plus impliquées (31).

3.3.2 Forme clinique pulmonaire :

Les symptômes de la maladie pulmonaire à MTN sont variables et non spécifiques. Cependant, tous les patients ont pratiquement une toux chronique ou récurrente. D'autres symptômes incluent la production d'expectoration, la fatigue, les malaises, la dyspnée, la fièvre, l'hémoptysie, les douleurs thoraciques et la perte de poids. Les symptômes constitutionnels sont progressivement plus fréquents avec l'avancement de la maladie pulmonaire à MTN (7).

3.3.3 Critères de diagnostic :

L'évaluation minimale d'un patient suspecté d'une maladie pulmonaire à mycobactéries non tuberculeuses (MNT) doit inclure les éléments suivants :

- Radiographie thoracique ou, en l'absence de cavitation, tomодensitométrie thoracique à haute résolution (HRCT);
- Trois spécimens ou plus de crachats pour la recherche du bacille alcoolico-acido-résistant (BAAR);
- Et exclusion d'autres infections telles que la tuberculose.

Les critères cliniques, radiographiques et microbiologiques sont également importants et tous doivent être remplis pour poser un diagnostic de maladie pulmonaire à MNT.

Les critères suivants s'appliquent aux patients symptomatiques présentant des opacités radiographiques, nodulaires ou cavitaires, ou un scanner (HRCT)

montrant une broncheectasie multifocale avec plusieurs petits nodules. Ces critères correspondent le mieux au complexe *Mycobacterium avium* (MAC), à *M. kansasii* et à *M. abscessus*. La plupart des autres MNT ne sont pas suffisamment connues pour être certains que ces critères de diagnostic sont universellement applicables à tous les agents pathogènes respiratoires des MNT (7).

3.3.3.1 Clinique :

Symptômes pulmonaires, opacités nodulaires ou cavitaires sur une radiographie thoracique, ou scanner HRCT montrant une broncheectasie multifocale avec plusieurs petits nodules ;

Et exclusion appropriée des autres diagnostics.

3.3.3.2 Critère Microbiologique :

La culture positive résulte d'au moins deux échantillons d'expectorations distincts ou la culture positive résulte d'au moins d'un lavage alvéolaire ou bronchique, ou d'une biopsie transbronchique ou d'un autre tissu du poumon présentant des caractéristiques histopathologiques mycobactériennes (inflammation granulomateuse ou BAAR) et culture positive pour MNT ou biopsie montrant des caractéristiques histopathologiques mycobactériennes (inflammation granulomateuse) et un ou plusieurs crachats ou lavages bronchiques de culture positive pour MNT.

La consultation d'experts devrait être obtenue lorsque les MNT récupérées sont peu fréquentes ou représentent généralement une contamination de l'environnement.

Les patients suspectés d'avoir une maladie pulmonaire liée aux MNT mais qui ne répondent pas aux critères de diagnostic doivent être suivis jusqu'à ce que le diagnostic soit fermement établi ou exclu.

L'établissement du diagnostic de maladie pulmonaire à MNT ne nécessite pas, en soi, l'institution d'un traitement, décision qui repose sur les risques et les avantages potentiels du traitement pour chaque patient (7).

3.3.3.3 Traitement :

Au Mali il n'existe pas de schéma thérapeutique standard pour les MNT. Les molécules utilisées dans notre contexte sont la rifampicine, l'isoniazide, l'éthambutol et la clarithromycine ou l'érythromycine. Le traitement est long et peut aller jusqu'à 12 mois après négativation des prélèvements ou au maximum 18 mois (29).

3.4 Epidémiologie :

La tuberculose est la principale cause de mortalité chez les personnes vivants avec le VIH selon l'organisation mondiale de la santé (4). En 2018, il y avait environ 10 millions de nouveaux cas de tuberculose dans le monde. La tuberculose affecte les deux sexes de toutes les tranches d'âge, mais le fardeau est plus élevé chez les hommes adultes dans 57% des cas, ensuite les femmes et les enfants avec respectivement 32% et 11% (4). Les personnes vivant avec le VIH représentaient 8,6% dans le monde en 2018 (4). À l'échelle mondiale, il y a eu 1,2 million de décès par tuberculose chez les personnes séronégatives et 251 000 chez les personnes séropositives (4). Ces taux de décès ont considérablement baissé depuis 2000 de 27% chez les personnes séronégatives et de 60% chez les personnes séropositives (4). Le taux moyen de baisse du taux d'incidence de la tuberculose était de 1,6% par an au cours de la période 2000-2018 et de 2% entre 2017 et 2018. La réduction cumulative entre 2015 et 2018 n'était que de 6,3%. La réduction mondiale du nombre de décès dus à la tuberculose entre 2015 et 2018 était de 11% (4). En 2018, il y avait environ un demi-million (417 000 à 556 000) de nouveaux cas de tuberculose résistante à la rifampicine dont 78% avaient une tuberculose multirésistante (TB-MR). La prévalence des infections causées par les MNT a augmenté au cours des dernières années dans les pays industrialisés comme les Etats Unis d'Amérique se situant entre 1,4 et 6,6 / 100000 (16).

L'Afrique a enregistré 24% des cas de tuberculose en 2018. Huit pays enregistraient les deux tiers du total dont deux pays africains à savoir le Nigéria et l'Afrique du Sud. L'incidence et les décès diminuent respectivement de 4,1 et

5,6 % par an dans la région africaine de l’OMS avec des réductions cumulatives de 12% pour l’incidence et de 16% pour les décès entre 2015 et 2018. La coinfection TB/VIH représentait 8,6 % dont 50 % en Afrique australe (4).

Au Mali, l’incidence de la TB était estimée à 35 cas/100 000 habitants en 2018. Au total 6889 cas incidents toutes formes ont été notifiés soit 63% de tuberculose pulmonaire à bactériologie positive, 13% de cas cliniquement diagnostiqués, 3% de rechutes, 1% d’échec et 18% de tuberculose extra pulmonaire (TEP) en 2018. Le taux de détection était de 64% et 71% des patients avaient un statut VIH connu soit 10% de séropositivité. Le taux de décès a été élevé de 18% chez les patients TB/VIH (32).

Selon une étude réalisée en 2012 à SEREFO, 19,71% étaient infectés par le VIH parmi lesquels 89,3% étaient des tuberculeux naïfs au traitement et 10,7% avaient une tuberculose chronique (31). Les infections à MNT étaient plus fréquentes chez les patients non VIH avec 12,28% comparé aux patients infectés par le VIH (31).

3.5 Physiopathologie

3.5.1 TB et VIH :

Après pénétration dans les voies respiratoires, les Mycobactéries infectent les macrophages, tandis que les lymphocytes T CD4 + produisent de l’interféron gamma (IFN), de l’interleukine-2, du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF α) et du facteur de stimulation des colonies de macrophages, qui activent les macrophages et les cellules cytotoxiques pour inhiber leur croissance intracellulaire. La tuberculose apparaît lorsque la réponse immunitaire induisant un granulome est insuffisante pour limiter la croissance des mycobactéries (33). L’IFN joue un rôle pivot à ce stade. En effet, les personnes porteuses de défauts génétiques qui entraînent une baisse de la production d’IFN ou de ses récepteurs cellulaires développent une TB grave et mortelle. Pendant l’infection par le VIH, la production d’IFN diminue considérablement en parallèle avec la réduction des

lymphocytes T CD4⁺, ce qui conduit finalement à un risque nettement accru de développer une réactivation ou une réinfection par *M. tuberculosis* chez ces patients. À l'inverse, la tuberculose peut également influencer l'évolution du VIH. La production de cytokines pro-inflammatoires par les granulomes tuberculeux en particulier le TNF α a été associée à une augmentation de la virémie à VIH, ce qui pourrait accélérer la progression vers une immunosuppression sévère. Le risque de décès chez les patients infectés par le VIH atteints de tuberculose est le double de celui des patients infectés par le VIH sans tuberculose avec un nombre de cellules CD4 correspondant, la plupart des décès étant causés par une infection progressive par le VIH plutôt que par la tuberculose (33).

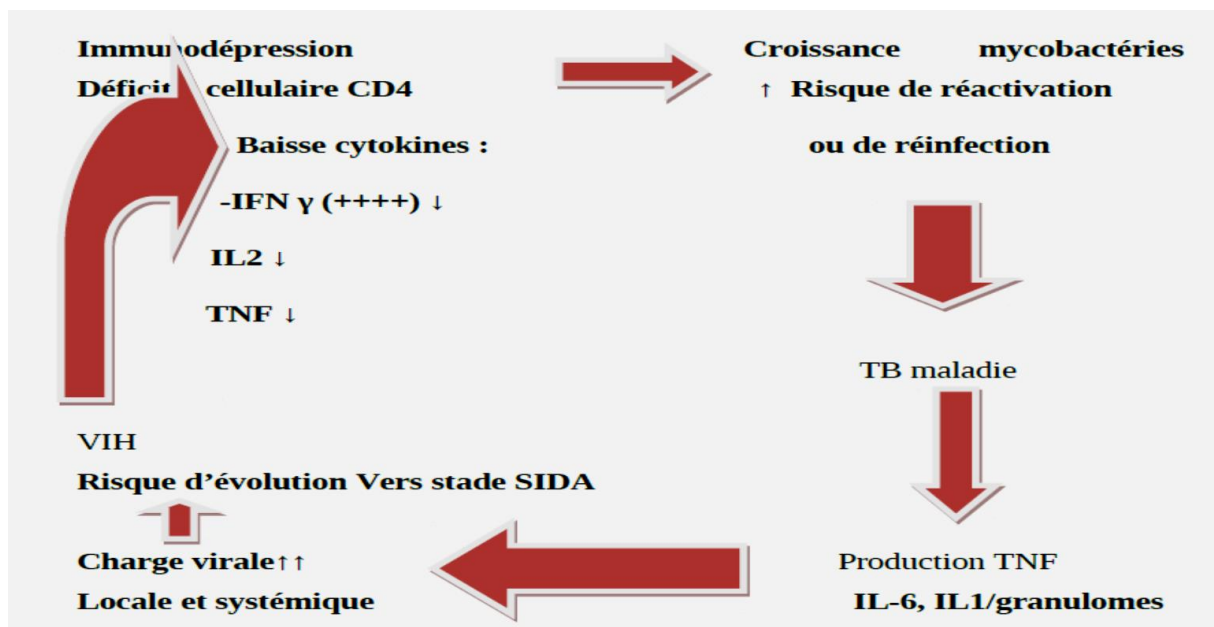


Figure 1 : Physiopathologie de la co-infection : cercle vicieux (34).

3.5.2 MTN et VIH :

Chez les patients infectés par le VIH, les infections disséminées à MNT sont les plus courantes et les plus graves généralement à cause du nombre bas de lymphocytes T CD4⁺ en dessous de 50 / μ l (7).

3.6 Description des outils de diagnostic de la tuberculose

3.6.1 Examen microscopique :

Cet examen peut être effectué soit directement sur le produit pathologique soit après fluidification et décontamination. Le caractère d'acido-alcool-résistance des mycobactéries permet l'utilisation de colorations spécifiques telles que le Ziehl Neelsen ou l'auramine. Il est peu coûteux et permet un dépistage rapide en quelques heures, cependant il présente deux inconvénients qui sont une faible sensibilité et de spécificité. Il faut plus de 10^4 bacilles par millilitre de produit pour que l'examen soit positif, et la sensibilité est d'environ 50 % pour les échantillons d'origine pulmonaire. Le manque de spécificité est lié au fait que l'examen microscopique ne permet pas de différencier le MTBC des MTN (11).

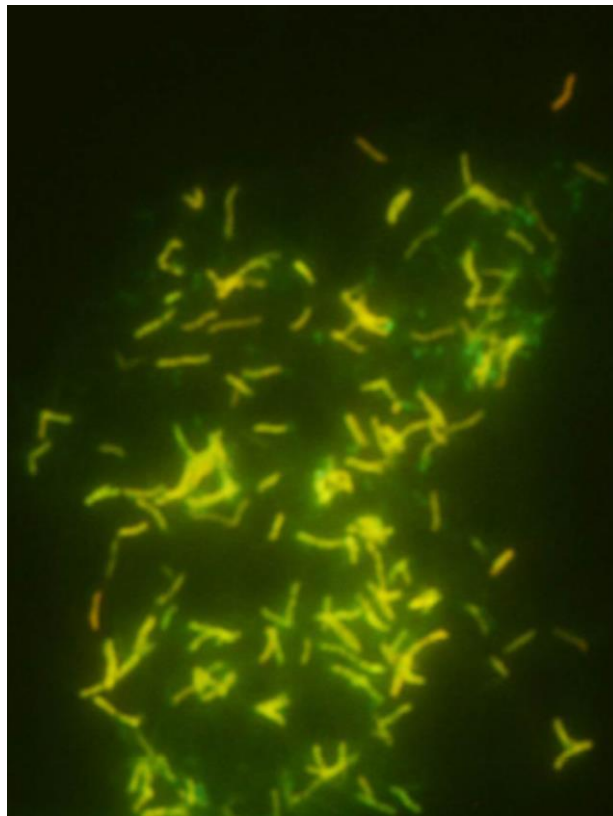


Figure 2 : coloration fluorescente à l'Auramine-Rhodamine (14).

3.6.2 La culture des mycobactéries (MTB/MNT) :

La culture sur milieux solides L-J reste le gold-standard du diagnostic de la tuberculose et permet de faire l'identification des mycobactéries isolées et de procéder à la mesure de la sensibilité aux antibiotiques (11,13). Il existe deux types de milieux de culture : les milieux de culture solides et les milieux de culture liquides.

3.6.2.1 Milieux solides :

Ce sont des milieux gélosés nous permettant d'avoir des colonies caractéristiques et la purification de celles-ci. Parmi les milieux de cultures solides, on peut citer : le milieu Lowenstein-Jensen (L-J) qui est le milieu de référence, le milieu 7H10, 7H11. La culture sur milieu solide dure de 2 à 6 semaines et il faut attendre 8 semaines pour la déclarer négative. Malgré le faible taux de croissance, la culture de mycobactéries est environ 100 fois plus sensible que le frottis BAAR ne nécessitant que 10 à 100 UFC / ml d'échantillon pour une croissance fiable (14).

3.6.2.2 Milieux Liquides :

Ce sont des bouillons de culture permettant une croissance plus rapide. Son délai est de 1 à 2 semaines et encore moins en milieu automatisé. Les cultures liquides ne forment pas de colonies. Le MGIT est le milieu liquide le plus utilisé soit en incubation manuelle (4 ml) ou automatisé (7 ml) au Batec MGIT 960. (15).

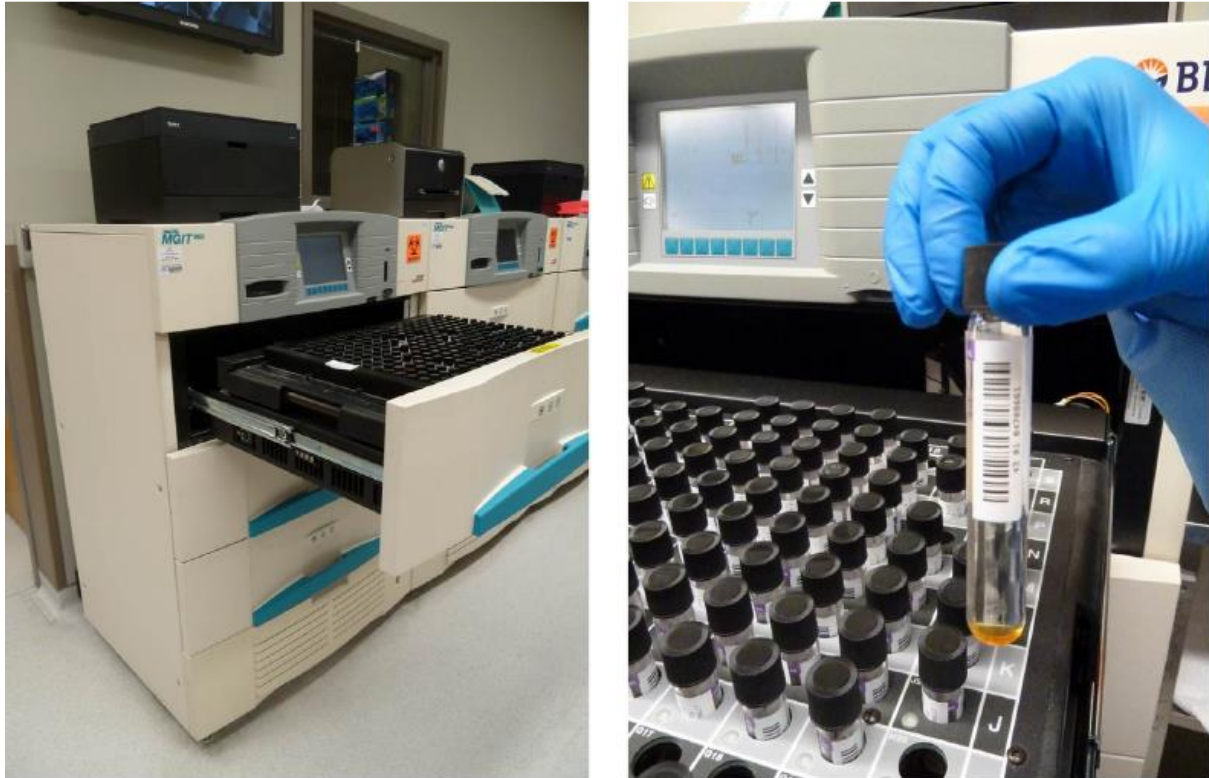


Figure 3 : L'instrument BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson) et les tubes de culture pour la croissance mycobactérienne à base de bouillon (14).

3.6.3 Méthode de biologie moléculaire

3.6.3.1 Le Test Xpert MTB / RIF :

En 2010, l'OMS a recommandé l'utilisation du test Xpert MTB / RIF comme test de diagnostic initial pour la détection de la tuberculose associée au VIH et pour laquelle des taux élevés de pharmaco résistance étaient suspectés. Le test était en première classe pour un certain nombre de raisons :

- Amélioration de la sensibilité par rapport aux tentatives précédentes d'utilisation de stratégies NAA (NAA) ;
- Détection simultanée de la résistance à la rifampicine ;
- Format modulaire permettant des tests sur un spectre des besoins en volume ;
- La possibilité d'automatisation ;
- Simplicité ;
- Rapidité et

- Sécurité (salle individuelle, aucune hotte contre les risques biologiques et tests disponibles même en clinique) (35).

Un système de traitement des échantillons et un dosage PCR automatisé en temps réel sont intégrés dans une seule cartouche à usage unique. Le test peut être effectué directement à partir d'un échantillon d'expectoration clinique ou d'un culot d'expectoration décontaminé et peut généralement être terminé en moins de 2 heures. Sa sensibilité globale est de 98% à 100%, une sensibilité de 72% chez les patients à frottis négatifs et une spécificité de 100% (36).

Beaucoup de pays utilisent largement le test Xpert pour le diagnostic chez les patients infectés par le VIH (35).



Figure 4 : Système Cepheid Xpert ® et cartouche de test MTB / RIF pour le diagnostic moléculaire du complexe *M. tuberculosis* et des mutations associées à la résistance à la rifampicine (14).

3.6.3.2 La PCR multiplexe :

C'est une nouvelle perspective de biologie moléculaire en évaluation permettant de faire le diagnostic simultané de MTBC et MNT. L'essai est une PCR en temps réel couplé à une extraction par capture spécifique de l'ADN pour minimiser et uniformiser les manipulations d'échantillons. La limite de détection du test concernant pour MTBC est de 5 UFC / ml (37). Le témoin négatif interne (les réactifs de PCR sans ADN) et les témoins positifs (ADN de MTBC et MAC) sont inclus dans le test pour une interprétation appropriée des résultats.

❖ Principe du test qPCR :

La PCR quantitative en temps réel repose sur la possibilité de suivre le résultat de l'analyse en cours (« en temps réel ») à l'aide de la fluorescence. Les données de fluorescence sont collectées à chaque cycle de la PCR et représentent la quantité de produits amplifiés à cet instant. Plus l'échantillon est concentré en molécules cibles à l'origine, moins il faudra de cycles pour atteindre un point pour lequel le signal fluorescent est significativement supérieur au bruit de fond. Ce point est défini comme le Ct et apparaît en début de phase exponentielle. En moyenne une PCR comporte entre 20 et 40 cycles.

Les composants de la PCR sont le milieu réactionnel qui comporte l'ADN à amplifier, les dNTPs, les deux amorces, la Taq polymérase, un tampon et des ions magnésium (MgCl₂). Ces deux derniers composants définissent un milieu avec un pH optimal et une concentration saline optimale pour le bon fonctionnement de l'enzyme.

➤ Le matériel génétique : ADN ou ARN

Avant la réaction de PCR, le matériel génétique est extrait à partir de l'échantillon à analyser. Puis, cet extrait purifié en ADN ou ARN ne contenant que le fragment à amplifier peut-être utiliser en PCR.

➤ **Les deux amorces :**

Ce sont des fragments courts d'ADN, capables de s'hybrider de façon spécifique, grâce à la complémentarité des bases, sur l'un des deux brins d'ADN. Les amorces sont choisies de façon à encadrer la séquence d'ADN à amplifier. La taille de ces amorces est généralement d'une vingtaine de désoxyribonucléotides. De plus, les amorces sont en très forte concentration par rapport à celle de l'ADN à amplifier.

➤ **Les Désoxyribonucléotides-Tri-Phosphates (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) :**

Les dNTPs (Désoxyribonucléotides-Tri-Phosphates) sont des molécules de base, qui constituent l'ADN, utilisés par la Taq polymérase pour la synthèse du nouveau brin d'ADN complémentaire.

➤ **Une enzyme, taq polymérase :**

L'enzyme utilisée est une polymérase, c'est-à-dire qu'elle peut synthétiser un nouveau brin d'ADN à partir du brin d'ADN matrice après s'être fixée à une amorce.

Le test compte trois cycles avec des temps, températures et cycles différents et prends au maximum 2h qui sont :

- **Le premier cycle ou cycle de dénaturation initiale** : elle consiste à chauffer les brins d'ADN et dure 2min.
- **Le deuxième cycle ou dénaturation cyclique** : divise le double brin de l'ADN en simple brin. Elle dure 15sec et est répété 45 fois.
- **Le troisième cycle** : il consiste à l'hybridation des brins d'ADN puis faire la synthèse de ce brin, les amorces se couplent aux sondes et ses sondes émettent des fluorescences pour la lecture.

Les thermocycleurs utilisé dans notre étude sont Applied Biosystems® 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument avec le logiciel SDS. C'est un système d'amplification en temps réel et de détection de fluorescence à cinq couleurs disponibles pour un diagnostic in vitro. C'est un instrument qui offre des

performances requises pour des résultats de haute qualité avec les plaques de 96 puits.

Deux régions ou génomes sont ciblées par l'essai. Il s'agit de la région IS6110 et le SenX3-regX3 pour détecter le CMT. Ces deux régions sont largement préservées chez le CMT et absentes chez les MNT.

L'IS1311 a été utilisé comme cible d'identification pour toutes les espèces de MAC excepté *M. intracellulaire*.

METHODOLOGIE

4 METHODOLOGIE

4.1 Type, lieu et période de l'étude :

Nous avons mené une étude transversale allant du 01 Novembre 2018 au 31 Octobre 2019 au centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC/ SEREFO) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB).

4.2 Cadre de l'étude :

Les patients ont été recrutés dans les différentes communes du district de Bamako au niveau des centres de santé de référence (CSRéf) des communes IV, V, VI et le service de Pneumologie du CHU Point G.

4.3 Présentation du service :

Le laboratoire SEREFO (Centre de Recherche et de Formation sur le VIH et la Tuberculose, actuel UCRC) a été inauguré officiellement le 6 mars 2006, Ce programme de recherche est le fruit d'un partenariat entre l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB ex Université de Bamako) et l'Institut National d'allergie et des maladies infectieuses des Instituts Nationaux de la Santé des Etats Unis d'Amérique (NIH/NIAID). Depuis 2015, les laboratoires UCRC/SEREFO font partir du programme de recherche clinique de l'université appelé Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC). Ce centre comprend plusieurs laboratoires :

- Un laboratoire clinique
- Un laboratoire de tuberculose et des fièvres hémorragiques
- Un laboratoire de biologie moléculaire
- Un laboratoire d'immunologie (Core)
- Un laboratoire d'épidémiologie moléculaire du VIH

a. Le laboratoire de tuberculose et des fièvres hémorragiques : C'est un laboratoire de Biosécurité de Niveau 3 (BSL-3+) permettant la manipulation de pathogènes hautement dangereux. Il est certifié annuellement par des

structures habilitées pour les normes internationales de sécurité microbiologiques depuis 2006. C'est un des premiers laboratoires de niveau de sécurité 3 de la sous-région d'Afrique francophone. Il a conduit le diagnostic des suspects de la maladie à virus Ebola au Mali et a aussi soutenu la Guinée en 2015. Il a joué un rôle clé dans la riposte contre l'épidémie ouest africaine (2014-2015) de la maladie à virus Ebola et participe actuellement au diagnostic et suivi des patients suspect de COVID-19 au Mali (38).

- b. Le laboratoire de biologie moléculaire :** composé de plusieurs thermocycleurs pour PCR classique et PCR en temps réel. Ce laboratoire fait essentiellement le typage des souches mycobactérie isolées dans le BSL-3 en vue d'établir l'épidémiologie moléculaire de la tuberculose au Mali et conduit la partie moléculaire du diagnostic des fièvres hémorragiques et le nouveau coronavirus après inactivation dans le BSL-3.
- c. Le laboratoire d'immunologie (Core) :** Il a en son sein des cytomètres de flux et des chaînes ELISA complète. Ce laboratoire conduit des études permettant de complexes visant à mieux comprendre la pathogénie de la maladie, explore le système immunitaire et conduit des évaluations de nouveaux vaccins contre le paludisme et la maladie à virus Ebola.
- d. Le laboratoire d'épidémiologie moléculaire du VIH :** il s'occupe essentiellement du suivi de la charge virale des patients infectés par le VIH/SIDA sous traitement antirétroviral (ARV). Elle conduit aussi le génotypage des souches de VIH en vue de détecter la résistance aux ARV.

4.4 Population d'étude :

Les patients diagnostiqués tuberculeux avec une bacilloscopie positive et co-infectés par le VIH (cas) et des patients suspects de tuberculose dont la microscopie était négative quelque soit le statut VIH (contrôle).

4.5 Critères d'inclusion :

- Etre âgé(e) de 18 ans ou plus ;

- Etre infecté par le VIH ;
- Avoir une microscopie positive à la recherche de BAAR naïf de tout traitement antituberculeux pour les patients TB/VIH+ (cas) ou un patient présentant des symptômes de tuberculose et dont la microscopie et la culture étaient négatives quelque soit le statut VIH (contrôle);
- Etre résident à Bamako au moment du recrutement;
- Donner son consentement libre éclairé.

4.6 Critères de non inclusion :

- N'ont pas été inclus dans cette étude tout patient ne remplissant pas un des critères d'inclusion ;
- Les Patients VIH+ ayant une microscopie positive et qui ont une culture négative pour les cas et une culture positive pour le groupe contrôle ;
- Les patients souffrant de conditions médicales ou autre circonstance de l'avis de l'investigateur pourrait rendre la participation du patient dangereuse ou difficile.

4.7 Critères d'exclusion :

- Microscopie positive et culture négative pour les cas ;
- Microscopie négative et culture positive pour les contrôles.

4.8 Echantillonnage :

L'échantillonnage a inclus tous les patients co-infectés TB/VIH+ qui répondaient aux critères d'inclusion pendant notre période d'étude.

4.9 Collecte des données :

Les patients ont été recrutés dans les centres de santé de référence (CSRéf) des communes IV, V et VI du district de Bamako et au service de Pneumologie du CHU de Point G. Les malades étaient informés sur les procédures de l'étude avant de passer à la signature du formulaire du consentement, ensuite un examen physique complet de malade était réalisé puis la collecte des échantillons qui étaient envoyés au laboratoire SEREFO/UCRC pour des tests de laboratoires.

La participation du malade se limitait à deux visites réparties comme suit : Première visite (J1), deux échantillons de sang (SST et EDTA) pour le bilan biologique (NFS et la sérologie VIH) et un échantillon de crachat. La visite 2 (J2) au lendemain consistait au recueil de deux échantillons de crachat pour la confirmation bactériologique de la tuberculose.

4.10 Méthode de laboratoire :

La PCR Multiplexe pour le diagnostic simultané de CMT et MNT a été mise au point au laboratoire UCRC/SEREF0 à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie de l'Université des Sciences, Techniques et Technologies de Bamako (USTTB) à travers une étude pilote. Cette étude a utilisé l'ADN commercial des souches de mycobactéries déjà identifiées par séquençage et des souches de mycobactéries déjà identifiées et isolées dans le laboratoire P3 de UCRC-SEREF0 chez des personnes atteintes de tuberculose pulmonaire ou de mycobactérioses non tuberculeuse ont été utilisés. Les souches utilisées ont été : complexe *M. avium*, *M. gordonea*, *M. kansasii*, *M. intracellulaire*, *M. fortuitum* et des souches de CMT comme souche de référence.

4.10.1 Extraction d'ADN :

Cette extraction a été basée sur la capture magnétique de l'ADN des mycobactéries tuberculeuses et non tuberculeuses uniquement dans les échantillons cliniques tout en éliminant d'autres ADN présents dans l'échantillon.

✓ Matériels et réactifs utilisés :

▪ Matériels utilisés :

- Tubes coniques 1,8ml ;
- Tube de fluidification contenant de la solution de Lauryl Sulfate de Sodium (SDS) et du Tris PH8 pour homogénéiser le crachat ;
- Tube de liaison contenant du sel de Magnésium et de Sodium ;
- Plaque chauffante agitatrice ;
- Portoir magnétique ;

- Portoir rotatrice ;
- Micropipette et embouts de 10 μ l ;
- Micropipette et embouts de 20 μ l ;
- Micropipette et embouts de 100 μ l ;
- Micropipette et embouts de 200 μ l ;
- Micropipette et embouts de 1000 μ l ;
- Pipette de 1 μ l ;
- Pipette Pasteur ;
- Portoir de tube conique ;
- Centrifugeuse de cryotubes ;
- Les tubes coniques 1,5 ml.
- **Réactifs utilisés et leur rôle :**
- **Tampon de Tris et Tween 20** : Il est utilisé comme solution de lavage.
- **Protéinase K** : Elle lyse la paroi bactérienne et libère le matériel génétique.
- **Contrôle d'extraction** : Il permet de confirmer la présence ou pas de l'ADN après extraction.
- **Solution de Bille** : Elle permet de capturer l'ADN par l'intermédiaire de la sonde de capture.
- **Capture sonde** : Il permet la capture des brins d'ADN complémentaire des MNT et du CMT.

✓ **Procédure d'extraction d'ADN par capture spécifique** :

Elle a été réalisée à partir des échantillons de crachats frais comme suit :

- Un millilitre (1ml) de crachat a été transféré dans le thinning tube contenant SDS (Lauryl Sulfate de sodium) à 2% au quel une solution du contrôle d'extraction et de la Protéinase k ont été ajoutées. Le mélange a été brièvement vortexé et chauffé deux fois de suite dans une plaque chauffante agitatrice à 55°C pendant 8 mn puis à 100°C pendant 10mn ;
- Cinq microlitres (5 μ l) de la solution de la capture probe ont été reparti dans le Binding tube (NaCl+ MgCl₂) auquel la totalité du contenu du Thinning

tube a été transférée. Ce mélange a été ensuite vortexé puis dans l'agitateur à 60° pendant 20 minutes pour la fixation du matériel génétique par la capture probe ;

- Pendant ce temps nous avons préparé la bille (PMP) en raison de 25µl de PMPs par échantillon dans des tubes placés sur portoir magnétique puis lavé avec une solution tampon (TT Buffer) trois fois de suite en aspirant le surnageant.
- Après les 20 minutes, 20µl de PMPs ont été ajoutés à chaque échantillon puis mélangé par rotation pendant 10 minutes ; Après la rotation, les tubes ont été placés dans un portoir magnétique puis procédé à un premier lavage en ajoutant 1ml de TT Buffer puis transféré dans un nouveau tube et retiré le surnageant de nouveau ;
- Le matériel génétique a été récupéré par élution avec 20µl de l'éluant à 75°C pendant 3 minutes ;
- L'éluant contenant l'ADN a été utilisé pour la PCR multiplexe en temps réel.

4.10.2 Réaction de polymérisation en chaine (PCR)

✓ Matériels et réactifs utilisé :

▪ Matériels :

- Micropipette de 10µl ;
- Micropipette de 20µl ;
- Micropipette de 100µl ;
- Micropipette de 200µl ;
- Plaque de PCR ;

▪ Réactifs et amorces utilisés pour la préparation du Master Mix :

- **Tréhalose :** Il est un acteur crucial dans l'assemblage et l'architecture de la remarquable enveloppe cellulaire mycobactérienne en tant qu'élément de

glycolipides hautement antigéniques uniques, à savoir le diméthylcolate de tréhalose ;

- **L'amorce du gène IS6110** : Elle est présente uniquement dans les agents pathogènes du Complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Elle est le marqueur épidémiologique de référence pour la tuberculose et joue un rôle important dans la plasticité du génome des micro-organismes ;
- **L'amorce du gène IS1311** : Elle est présente dans le Complexe *Mycobacterium avium*, c'est le marqueur spécifique de ce dernier ;
- **Gène CotJc** : gène d'atrophaeus *Bacillus* spore et sert de contrôle d'extraction ;
- **DésoxyriboNucléotides de Ti-Phosphate DNTP** : sont les monomères précurseurs de l'ADN et qui peuvent ainsi être utilisés pour l'amplification de l'ADN par PCR;
- **L'amorce du gène SenX3-RegX3** : C'est un gène qui est nécessaire à la survie du CMT lors d'une infection murine (infections des rats, des souris etc...);
- **Les amorces des autres mycobactéries (Pan Myco)** : Ensembles des amorces spécifiques pour les mycobactéries non tuberculeuses considérées par notre étude en se basant sur leur capacité à engendrer une pathologie chez l'homme et leur prévalence au Mali ;
- **Tween20** : est un agent dispersant et solubilisant non ionique, ni toxique, ni irritant dérivé du sorbitol utilisé dans l'industrie alimentaire et chimique;
- **L'Eau ultra pure** : elle est utilisée pour les dilutions ;
- **Albumine du Sérum de Bovin (BSA)** : offre de nombreuses utilisations possibles comme protéine porteuse et comme agent stabilisant dans les réactions enzymatiques.

✓ **Réalisation de la PCR** :

Des quantités indiquées par le fabricant ont été prises dans chaque amorce pour constituer le mélange réactionnel (Master Mix). A la fin il a été conditionné en

quantité de 10 réactions et 20 réactions puis lyophilisé pour faciliter sa conservation.

Le lyophilisat a été reconstitué avec une solution de Glycérol à 60%, de la Bicine, du Chlorure de Magnésium, de l'Acétate de Potassium (KoAc), du Tris PH8, du Tween20 et de l'eau ultra pure.

Ensuite 15ul du mélange réactionnel (Master-Mix) reconstitué ont été transférés dans les puits de la plaque de PCR aux quels 10 µl de l'éluât d'ADN ont été ajouté. La plaque a été ensuite transférée dans le thermocycleur (ABI Fast 7500 Dx®) et le test a été lancé pour 1h30 mn.

4.11 Analyse des données :

Les données ont été recueillies sur des fiches d'enquêtes individuelles puis saisies dans la base de données électronique Redcap de l'université de Northwestern (USA) puis analysées avec Epi Info version 7. Le test de Fisher a été utilisé pour comparer les proportions et ANOVA pour la comparaison des moyennes. La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positive et négative ont été calculées. La valeur de la probabilité p a été considérée comme statistiquement significative si elle est inférieure à 0,05.

4.12 Aspects éthiques et déontologiques :

L'étude a été approuvée par le comité d'éthique de la FMOS et de l'Université de Northwestern aux Etats Unis. Un consentement a été obtenu de chaque patient avant les procédures de l'étude. Les échantillons ont été rendu anonymes grâce à un numéro d'identification des patients avant leur acheminement au laboratoire.

RESULTATS

5 **RESULTATS**

5.1 **Résultats globaux :**

Nous avons recruté 100 patients dont 50 patients TB/VIH+ naïfs de traitement antituberculeux classés comme cas et 50 contrôles. Les contrôles ont été définis comme tout patient ayant des symptômes respiratoires compatibles avec la tuberculose et dont la microscopie et la culture étaient négatives. Parmi les 50 patients VIH+ dont la microscopie était positive, 20 ont eu des cultures négatives au CMT et ont été exclus de l'étude. Huit (8) ont été exclus parmi les contrôles pour culture positive. Au total les données de 72 patients dont 30 TB/VIH+ et 42 contrôles ont été analysées.

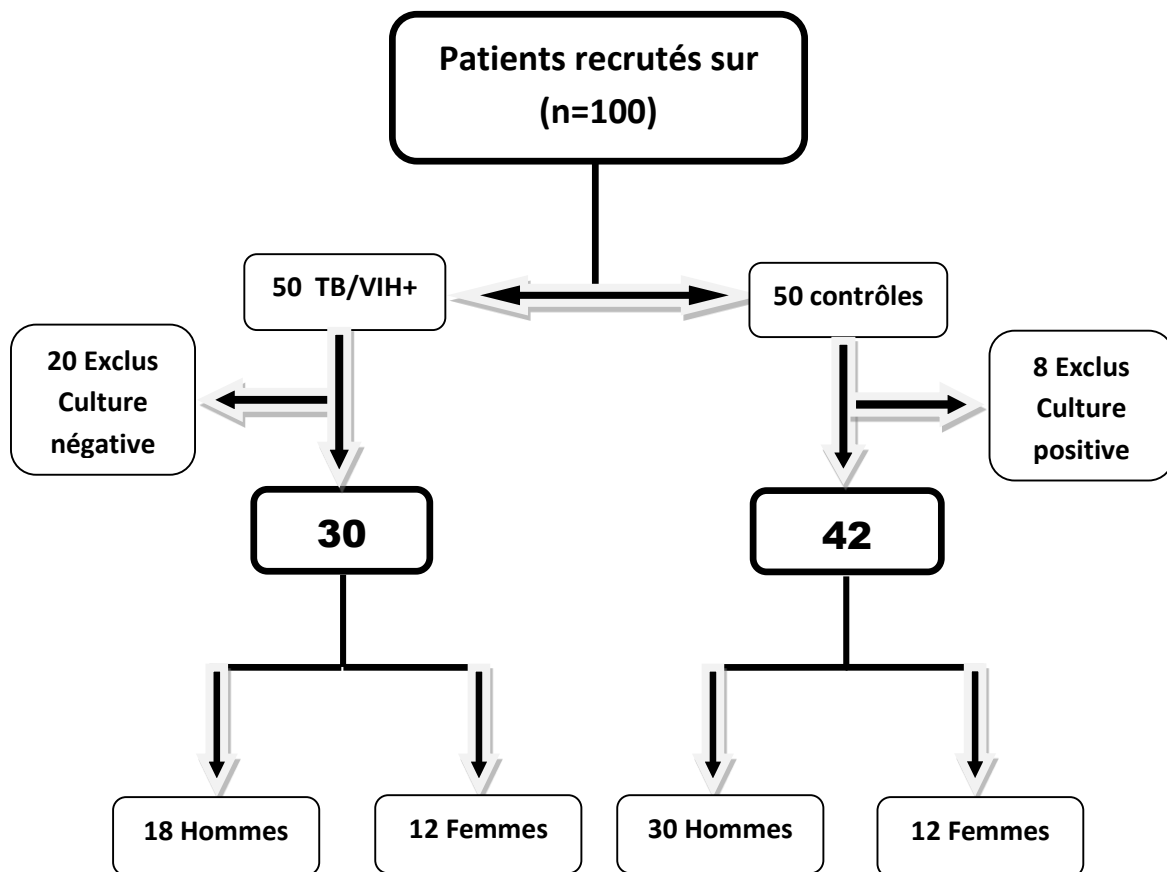
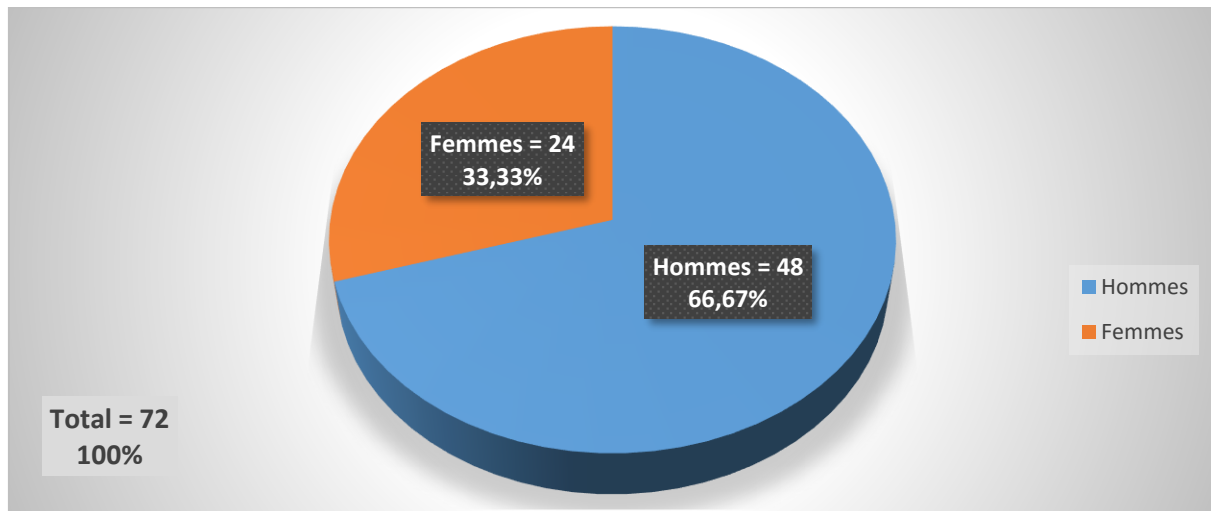


Figure 5 : Diagramme de flux des patients de l'étude.

5.2 Caractéristiques sociodémographiques :



Les hommes étaient les plus représentés dans notre étude avec **66,67%**.

Figure 6 : répartition des patients selon le sexe.

Tableau I : répartition des patients selon le statut matrimonial.

| Statut matrimonial | Effectif (n) | Pourcentage (%) |
|--------------------|--------------|-----------------|
| Célibataire | 7 | 9,72 |
| Marié (e) | 62 | 86,11 |
| Divorcé (e) | 1 | 1,39 |
| Veuf (ve) | 2 | 2,78 |
| Total | 72 | 100 |

Les mariés étaient majoritaires avec **86,11% des cas**.

Tableau II : répartition des patients selon la profession.

| Profession | Effectif (n) | Pourcentage (%) |
|---------------|--------------|-----------------|
| Commerçant | 7 | 9,72 |
| Cultivateur | 7 | 9,72 |
| Etudiant | 2 | 2,78 |
| Fonctionnaire | 7 | 9,72 |
| Ménagère | 21 | 29,17 |
| Ouvriers | 20 | 27,78 |
| Autres | 8 | 11,11 |
| Total | 72 | 100 |

Les ménagères et les ouvriers étaient les plus représentés avec respectivement **29,17%** et **27,78%**.

Tableau III : répartition des patients selon l'ethnie.

| Ethnie | Effectif (n) | Pourcentage (%) |
|---------|--------------|-----------------|
| Bambara | 23 | 31,94 |
| Dogon | 4 | 5,56 |
| Malinké | 10 | 13,89 |
| Peulh | 14 | 19,44 |
| Senoufo | 3 | 4,17 |
| Soninké | 8 | 11,11 |
| Sonrhäï | 4 | 5,56 |
| Autres | 6 | 8,33 |
| Total | 72 | 100 |

Les bambaras étaient majoritaires avec **31,94%**.

Tableau IV : répartition des patients selon le groupe et le lieu de recrutement.

| Lieu de recrutement | TB/VIH+ n (%) | Contrôles n (%) | Total |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------|
| Commune IV | 0 (0,00) | 1 (2,38) | 1 |
| Commune V | 22 (73,33) | 35 (83,33) | 57 |
| Commune VI | 6 (20,0) | 6 (14,29) | 12 |
| CHU du Point G | 2 (6,67) | 0 (0,00) | 2 |
| Total | 30 | 42 | 72 |

La majorité de nos patients a été recruté en commune V soit **73,33%** des TB/VIH+ et **83,33%** des contrôles.

Tableau V : répartition des patients selon le groupe et le sexe.

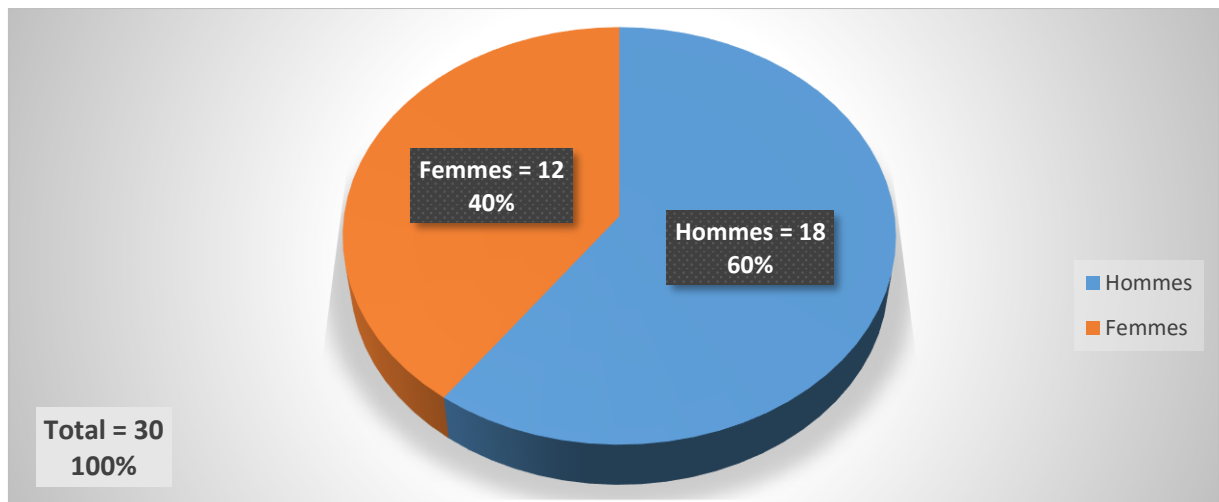
| Sexe | TB/VIH+ n(%) | Contrôles n(%) | Total |
|--------------|--------------|----------------|-----------|
| Hommes | 18 (60,0) | 30 (71,43) | 48 |
| Femmes | 12 (40,0) | 12 (28,57) | 24 |
| Total | 30 | 42 | 72 |

Les hommes prédominaient dans les 2 groupes respectivement de **60%** pour les TB/VIH+ et **40%** pour les contrôles avec un sex-ratio de **1,5** et **2,5**.

Tableau VI : répartition des patients selon la tranche d'âge et le groupe.

| Tranche d'âge | TB/VIH+ n (%) | Contrôles n (%) | Total |
|----------------|-----------------|-------------------|-----------|
| 18-24 ans | 3 (10,0) | 3 (7,14) | 6 |
| 25-34 ans | 7 (23,33) | 9 (21,43) | 16 |
| 35-44 ans | 8 (26,67) | 15 (35,71) | 23 |
| 45-54 ans | 9 (30,0) | 5 (11,90) | 14 |
| 55-64 ans | 1 (3,33) | 6 (14,29) | 7 |
| 65 ans et plus | 2 (6,67) | 4 (9,52) | 6 |
| Total | 30 | 42 | 72 |

La tranche d'âge de **45-54 ans** était la plus représentée soit **30%** dans le groupe TB/VIH+ et celle de **35-44** soit **35,71%** dans le groupe contrôle.



Les hommes étaient les plus touchés par le VIH avec **60%** de nos patients.

Figure 7 : répartition des patients TB/VIH+ selon le sexe et le statut VIH.

5.3 Caractéristiques cliniques et biologiques :

Tableau VII : répartition des patients par groupe en fonction des symptômes.

| Signes pulmonaires | TB/VIH+ n (%) | Contrôles n (%) | Total |
|--------------------|------------------|-----------------|-------|
| Toux | 30 (100) | 42 (100) | 72 |
| Douleur thoracique | 9 (30,0) | 11 (26,19) | 20 |
| Dyspnée | 12 (40,0) | 11 (26,19) | 23 |
| Fièvre | 3 (10,0) | 2 (4,76) | 5 |
| Sueur nocturne | 1 (3,33) | 1 (2,38) | 2 |
| Autres | 9 (52,94) | 8 (47,07) | 17 |

Tous nos patients présentaient une toux. La dyspnée ainsi que la douleur thoracique étaient plus fréquentes dans le groupe TB/VIH+ avec respectivement de **40%** et **30%**.

Tableau VIII : répartition des patients en fonction des signes à l'auscultation pulmonaire

| Auscultation pulmonaire | TB/VIH+ n (%) | Contrôles n (%) | Total |
|-------------------------|-------------------|-------------------|-------|
| Normal | 5 (16,67) | 13 (30,95) | 18 |
| Râles crépitants | 25 (83,33) | 27 (64,29) | 52 |
| Rhonchis | 0 (0,00) | 2 (4,76) | 2 |
| Total | 30 | 42 | 72 |

Les râles crépitants étaient les plus retrouvés dans les deux groupes respectivement de **83,33%** dans le groupe TB/VIH+ et **64,29%** dans le groupe contrôle.

Tableau IX : répartition des patients par groupe en fonction de l'indice de masse corporelle.

| IMC | TB/VIH+ n (%) | Contrôles n (%) | Total |
|---|--------------------------------|----------------------------------|--------------|
| Insuffisance pondérale (< 18,5) | 18 (60,0) | 10 (23,81) | 28 |
| IMC normal (18,5-24,99) | 11 (36,67) | 23 (54,76) | 34 |
| Surpoids (≥ 25,00-30) | 1 (3,33) | 7 (16,67) | 8 |
| Obésité (> 30) | 0 | 2 (4,76) | 2 |
| Total | 30 | 42 | 72 |

L'insuffisance pondérale était plus prédominante dans le groupe des TB/VIH+ soit **60%** contre **23,81%** dans le groupe contrôle. Le test de Chi² a montré une association significative entre insuffisance pondérale et TB/VIH+, valeur **p=0,002**.

Tableau X : comparaison des moyennes des paramètres hématologiques entre TB/VIH et le groupe contrôle.

| Paramètres hématologiques (Moy ± Dev.Std) | TB/VIH+ | Contrôles |
|---|--------------------|--------------------|
| Leucocyte (1000 cel/mm ³) | 10,11 ± 5,79 | 5,60 ± 4,78 |
| Erythrocyte (10 ⁶ /mm ³) | 3,20 ± 1,49 | 3,49 ± 2,22 |
| MCV (fl) | 70,03 ± 28,22 | 59,78 ± 39,44 |
| MHC (fl) | 22,24 ± 9,07 | 19,66 ± 12,35 |
| MCHC (fl) | 27,40 ± 11,03 | 23,99 ± 13,88 |
| Hémoglobine (g/dl) | 8,62 ± 3,47 | 8,94 ± 6,04 |
| Hématocrite (%) | 25,90 ± 12,15 | 29,17 ± 18,50 |
| Plaquette (10 ⁵ /mm ³) | 408,73 ± 148,57 | 302,80 ± 115,93 |
| Lymphocyte (#) | 1,39 ± 1,09 | 2,77 ± 7,45 |
| Lymphocyte (%) | 13,56 ± 9,96 | 24,04 ± 20,21 |
| Neutrophile (#) | 7,33 ± 5,17 | 2,96 ± 3,65 |
| Neutrophile (%) | 67,94 ± 26,06 | 35,56 ± 27,43 |
| Monocyte (#) | 0,52 ± 0,43 | 0,45 ± 0,38 |
| Monocyte (%) | 5,22 ± 4,01 | 6,70 ± 5,06 |
| Eosinophile (#) | 0,04 ± 0,06 | 0,27 ± 0,74 |
| Eosinophile (%) | 0,90 ± 1,82 | 3,21 ± 5,40 |
| Basophile (#) | 0,05 ± 0,03 | 0,04 ± 0,04 |
| Basophile (%) | 0,64 ± 0,59 | 0,72 ± 0,60 |

La moyenne du taux d'hémoglobine était diminuée dans le groupe TB/VIH+ comparé au groupe contrôle soit **8,62 g/dl** contre **8,94 g/dl**.

Par contre la fréquence de l'anémie dans les deux groupes (Hb < 12 g/dl) était de **63,33%** chez les patients TB/VIH+ et de **80,95%** chez les contrôles.

5.4 Evaluation du test :

Tableau XI : résultat du multiplexe en fonction de la microscopie chez les patients TB/VIH.

| Multiplexe | Microscopie + n (%) | | Total |
|--------------|--|-------------------------|-------|
| | Faiblement et modérément positive 1+ et 2+ | Fortement positive à 3+ | |
| Positif | 1 (20,0) | 22 (88,0) | 23 |
| Négatif | 4 (80,0) | 3 (12,0) | 7 |
| Total | 5 | 25 | 30 |

Le multiplexe a un taux de détection de **88%** chez les patients qui avaient une microscopie positive à 3+ contre **20%** à 1+ et 2+.

Tableau XII : répartition des patients selon le résultat du multiplexe et la culture.

| Multiplexe | Culture + | Culture - | Total |
|--------------|------------|---------------|-------|
| | TB/VIH (n) | Contrôles (n) | |
| Positif | 23 | 2 | 25 |
| Négatif | 7 | 40 | 47 |
| Total | 30 | 42 | 72 |

Le multiplexe a été positif chez **23** des patients TB/VIH+ et **2** du groupe contrôle.

Tableau XIII : performance du test.

| PCR Multiplexe | Estimation (%) | Intervalle de confiance à 95% |
|----------------------------|----------------|-------------------------------|
| Sensibilité | 76,67 | (59,07 - 88,21) |
| Spécificité | 95,24 | (84,21 - 98,68) |
| Valeur prédictive positive | 92 | (75,03 - 97,78) |
| Valeur prédictive négative | 85,11 | (72,31 - 92,59) |
| Exactitude du diagnostic | 87,5 | (77,92 - 93,28) |

Le multiplexe avait une sensibilité de **76,67%** et une spécificité de **95,24%**.

COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

6 COMMENTAIRES ET DISCUSSION

➤ **Limites de l'étude :**

Au décours de cette étude d'évaluation préliminaire de la PCR multiplexe pour la détection simultanée de MTB et MNT, nous avons noté quelques insuffisances notamment :

- La petite taille de l'échantillon due à l'exclusion des patients ayant une culture négative pour les TB/VIH+ ou positive pour le groupe contrôle influençant la performance de cet outil.
- Les données sur le stade du VIH, le traitement, le taux de TCD4+ et la charge virale n'ont pas été collectées, par conséquent nous n'avons pas pu juger de leur impact.

➤ **Caractéristiques sociodémographiques :**

La plupart de nos patients ont été enrôlé en commune V soit 73,33% grâce à la bonne collaboration que le centre entretient avec UCRC/SEREF0 depuis des années.

Au terme de cette étude, il est apparu que la population masculine était la plus prédominante avec 66,67%. Selon une étude sur le genre et la tuberculose, plus de 70% des personnes qui développent une tuberculose active sont des hommes (39). Il serait possible que la consommation d'alcool et ou de tabac soit un facteur de risque potentiel pour le développement de la tuberculose pulmonaire chez les hommes (40). Des facteurs socioéconomiques et culturels conduisant à des obstacles pour l'accès aux systèmes de soins de santé entraîneraient une sous notification chez les femmes. Par ailleurs les facteurs biologiques notamment la testostérone pourrait intervenir en diminuant la production de cytokines pro-inflammatoires favorisant ainsi la croissance des bacilles et la progression de la maladie (41).

La tranche d'âge de 45-54 ans était la plus représentée avec 30%.

La coinfection tuberculose/VIH touche principalement une couche très sexuellement active et la plus productive de la population notamment les jeunes hommes.

➤ **Aspects cliniques, biologiques et paracliniques :**

Cette étude a observé une faible fréquence des signes d'imprégnation bacillaire parmi lesquels la fièvre et la sueur nocturne avec des fréquences respectives de 10% et 3,33%. Une étude au Togo en 1991 a rapporté 19,48% de fièvre et de sueur nocturne à Lomé (42). Ceci pourrait s'expliquer par la fréquence des consultations par ces patients qui auraient bénéficié d'un traitement symptomatique pouvant mettre ces symptômes au second plan (43).

La symptomatologie clinique de nos patients était dominée par la toux qui a été retrouvée chez tous les patients tuberculeux, la douleur thoracique chez 30% et la dyspnée chez 40%. A l'auscultation pulmonaire, les râles crépitants bilatéraux ont été retrouvés chez 83,33%. Ces signes ont également été cités par d'autres auteurs comme étant les circonstances de découverte de la tuberculose. La toux, la dyspnée et la douleur thoracique ne sont pas spécifiques de la tuberculose. Ces symptômes sont également rencontrés dans de nombreuses affections respiratoires comme la crise d'asthme, la pleurésie, le pneumothorax, la bronchectasie (44).

Dans notre série 63,33% des patients TB/VIH+ étaient anémiques. La moyenne du taux d'hémoglobine chez les patients TB/VIH+ (8,62 g/dl) était légèrement en dessous de celle du groupe contrôle (8,94 g/dl) et cette différence n'était pas significative $p < 0,81$.

En 2005 une étude a rapporté que 95,5% des sujets atteints de VIH/Sida naïfs de traitement ARV étaient anémiques (45). Ce fut le cas dans bon nombres d'études au Mali et dans le monde (46). En Inde, une étude menée entre Mars 2007 et Mars 2008 a rapporté l'anémie dans 65,5% des cas chez les patients infectés par le VIH (47). L'anémie au cours de l'infection tuberculeuse serait dû au déficit

immunitaire, mais également aux septicémies bactériennes, à l'utilisation des médicaments comme la zidovudine, le ganciclovir, à la myélosuppression médicamenteuse et à l'absence de prophylaxie par le triméthoprime-sulfaméthoxazole (48,49).

Le protocole actuel recommande de débiter le traitement ARV sans délai dès le diagnostic quel que soit le stade clinique du patient (50). Ceci pourrait expliquer le taux d'hémoglobine bas dans notre groupe TB/VIH+. Ce n'était pas le cas avant 2009 où les patients ayant un taux de CD4 > 350 cellules/mm n'étaient pas immédiatement mis sous ARV mais bénéficieraient d'autre traitement avant le début des antirétroviraux (27).

La tuberculose continue d'être un problème de santé publique dans les pays subsahariens. La microscopie reste l'outil de diagnostic le plus utilisé malgré sa faible sensibilité. La culture sur milieux solide reste le gold standard pour le diagnostic de la tuberculose, elle est très sensible mais présente des risques de contamination pour les échantillons et la technique nécessite un laboratoire de sécurité de niveau élevé dont beaucoup de centres ne disposent pas (13). Le Xpert MTB / RIF peut être réalisé même sans laboratoire de niveau élevé mais ne permet pas de détecter les MNT.

Le multiplexe a détecté *Mycobacterium tuberculosis* chez 23 sur 30 cas de tuberculose et a été négative chez 40 sur 42 sujets contrôle de notre échantillon. La sensibilité calculée du multiplexe par rapport à la culture pour la détection de MTB était de 76,67% et la spécificité était 95,24%.

Les résultats préliminaires du multiplexe montrent une performance proche de celle de la culture mais aussi du Xpert MTB / RIF (78%) chez les patients infectés par le VIH (51). Du point de vue spécificité le multiplexe fera peu de faux négatif dans le diagnostic de la tuberculose puis qu'elle a identifié les 40 négatifs sur 42 dans le groupe contrôle. L'autre avantage du multiplexe que nous n'avons pas évalué dans cette étude est sa capacité de diagnostiquer simultanément les MTB et les MNT dans les échantillons. Cela permettra de confirmer la présence de

MNT chez les patients à microscopie positive chez qui le Xpert MTB/RIF a été négatif. Par ailleurs, grâce à son court délai de diagnostic et sa bonne spécificité observée dans cette évaluation préliminaire, le multiplexe doit faire l'objet d'une étude sur un échantillonnage large et mixte pour mieux explorer sa double vision de MTB et MNT.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION

Dans cette étude l'échantillonnage était constitué majoritairement d'hommes avec 66,67%. La toux, la dyspnée, la douleur thoracique étaient les manifestations cliniques les plus rencontrées. La sensibilité et la spécificité de la PCR multiplexe ont été respectivement de 76,67% et 95,24% par rapport à la culture. Cette étude préliminaire nous a montré que la PCR multiplexe a une bonne sensibilité et une bonne spécificité chez les patients TB/VIH+. Des études futures utilisant un large échantillonnage seront nécessaires pour une évaluation complète de sa performance pour la détection simultanée du MTB et des MNT.

RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude, nous formulons les recommandations suivantes :

Au ministère de la santé et des affaires sociales

Soutenir les structures de recherches dans l'amélioration des outils de diagnostic de la TB.

A la Cellule Sectorielle de Lutte contre le VIH SIDA, la Tuberculose et les Hépatites virales (CSLS – TBH) :

Promouvoir la recherche active de la tuberculose chez les personnes vivant avec le VIH à travers des contrôles de radiographie et de GeneXpert devant tout épisode de toux productive.

Au centre de santé de référence (CSRéf) :

- Renforcer le dépistage volontaire du VIH chez les patients tuberculeux;
- Réserver un suivi particulier aux patients vivants avec le VIH afin de mieux gérer les effets secondaires liés aux deux thérapies, mais aussi les interactions médicamenteuses.

Au laboratoire de l'UCRC/SEREFO :

Multiplier des études de recherche pour l'amélioration continue des soins des patients tuberculeux et VIH au Mali.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIE

1. **Aubry P, Gaüzère B-A.** Tuberculose. Diplôme de Médecine Tropicale Des Pays De l'Océan Indien Tuberculose. 3 janv 2019 [consulté 28 jan 2020]; Disponible sur: medecinetropicale.free.fr/cours/tuberculose_sida.pdf
2. **Belknap RW.** Current Medical Management of Pulmonary Tuberculosis. *Thorac Surg Clin.* févr 2019;29(1):27-35.
3. **Tuberculose : une des maladies contagieuses les plus meurtrières.** 24 mars 2019 [consulté 28 janv 2020]; Disponible sur: <https://www.pourquoidoctor.fr/MaladiesPkoidoc/740-Tuberculose-une-des-maladies-contagieuses-les-plus-meurtrieres-au-monde>
4. **Organisation Mondiale de la Santé.** Global Tuberculosis Report. 2019 [consulté 20 févr 2020]; Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf?ua=1>
5. **Organisation Mondiale de la Santé.** Profil de tuberculose au Mali. 2018 [consulté 28 jan 2020]; Disponible sur: extranet.who.int/sree/Reports?op=Replet&name=%2FWHO_HQ_Reports%2FG2%2FPROD%2FEXT%2FTBCountryProfile&ISO2=ML&LAN=EN&outtype=html
6. **Narendran G, Swaminathan S.** TB-HIV co-infection: a catastrophic comradeship. *Oral Dis.* avr 2016;22 Suppl 1:46-52.
7. **Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al.** An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 févr 2007;175(4):367-416.
8. **Falkinham JO.** Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment. *J Appl Microbiol.* août 2009;107(2):356-67.
9. **Porvaznik I, Solovič I, Mokry J.** Non-Tuberculous Mycobacteria: Classification, Diagnostics, and Therapy. *Adv Exp Med Biol.* 2017;944:19-25.
10. **Wassilew N, Hoffmann H, Andrejak C, Lange C.** Pulmonary Disease Caused by Non-Tuberculous Mycobacteria. *Respiration.* 2016;91(5):386-402.

11. **Maugein J, Bébéar C.** Diagnostic microbiologique de la tuberculose et intérêt de la PCR. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 1 mars 2003;33:153-8.
12. **Amicosante M, D'Ambrosio L, Munoz M, Mello FC de Q, Tebruegge M, Chegou NN, et al.** Current use and acceptability of novel diagnostic tests for active tuberculosis: a worldwide survey. *J Bras Pneumol*. 2017;43(5):380-92.
13. **Zingué D, Hien H, Méda N, Zida S, Kaboré A, Sanou A, et al.** Avantages et limites des méthodes de décontamination des expectorations pour le diagnostic de la tuberculose et des résistances aux antituberculeux. *Annales de Biologie Clinique*. 1 mai 2013;71(3):283-91.
14. **Caulfield AJ, Wengenack NL.** Diagnosis of active tuberculosis disease: From microscopy to molecular techniques. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*. 25 mai 2016;4:33-43.
15. **Organisation Mondiale de la Santé.** Journée mondiale de lutte contre la tuberculose. 24 mars 2018 [consulté 24 févr 2020]; Disponible sur: www.who.int/topics/tuberculosis/fr/
16. **Haworth CS, Banks J, Capstick T, Fisher AJ, Gorsuch T, Laurenson IF, et al.** British Thoracic Society guidelines for the management of non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTM-PD). *Thorax*. 2017;72(Suppl 2):ii1-64.
17. **Schutz C, Meintjes G, Almajid F, Wilkinson RJ, Pozniak A.** Clinical management of tuberculosis and HIV-1 co-infection. *European Respiratory Journal*. 1 déc 2010;36(6):1460-81.
18. **Brown III JW.** The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 7 oct 1998;280(13):1200-a-1200.
19. **Organisation Mondiale de la Santé.** Le traitement de la tuberculose : principes à l'intention des programmes nationaux. 2003 [consulté 24 févr 2020];26-36. Disponible sur: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69518/WHO_CDS_TB_2003.313_fre.pdf;jsessionid=4A3C65567EAD276F608B13141BE58FA1?sequence=1
20. **Organisation Mondiale de la Santé.** VIH/sida. 6 juill 2019 [consulté 24 févr 2020]; Disponible sur: www.who.int/topics/hiv_aids/fr/

21. **Aide Suisse contre le SIDA.** Evolution d'une infection par le VIH. [consulté 24 févr 2020]; Disponible sur: <https://aids.ch/fr/vivre-avec-vih/aspects-medicaux/evolution-de-linfection/>
22. **Le Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA.** Méthode de dépistage du VIH. nov 1997 [consulté 24 févr 2020]; Disponible sur: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/testmtu_fr_0.pdf
23. **Organisation Mondiale de la Santé.** Directives pour l'évaluation des techniques de dépistage du VIH en Afrique. 2001 [consulté 29 sept 2020]; Disponible sur: https://www.who.int/diagnostics_laboratory/publications/FR_HIVEval_Guide.pdf?ua=1
24. **Kone B, Sarro YS, Baya B, Dabita D, Coulibaly N.** Diagnostic Performances of Three Rapid Diagnostic Tests for Detecting HIV Infections in Mali. *Infect Dis Diag Treat.* 2019;3(134).
25. **Aubry P, Gaüzère B-A.** Tests de diagnostic rapide par immunochromatographie en zones tropicales. 2018 [consulté 30 sept 2020]; Disponible sur: <http://medecinetropicale.free.fr/cours/testrapide.pdf>
26. **Organisation Mondiale de la Santé.** Des tests de diagnostic moléculaire de l'infection à vih destinés à améliorer l'accès à la mesure de la charge virale et au diagnostic du vih chez le nourrisson. juill 2019 [consulté 24 févr 2020];44.
27. **Organisation Mondiale de la Santé.** Traitement antirétroviral de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent en situation de ressources limitées : vers un accès universel. 2008 [consulté 24 févr 2020];20-3; Disponible sur: https://www.who.int/hiv/pub/arv/rapid_advice_art_fr.pdf?ua=1
28. **Organisation Mondiale de la Santé.** Orientations cliniques tout au long du continuum de soins : traitement antirétroviral. 2013 [consulté 24 févr 2020];154.
29. **Andréjak C, Lescure F-X, Schmit J-L, Jounieaux V.** Diagnostic et traitement des mycobactérioses atypiques d'expression respiratoire *Revue des Maladies Respiratoires.* déc 2011;28(10):1293-309.
30. **Prevots DR, Shaw PA, Strickland D, Jackson LA, Raebel MA, Blosky MA, et al.** Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease Prevalence at Four Integrated Health Care Delivery Systems. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 oct 2010;182(7):970-6.

31. **Maiga M, Siddiqui S, Diallo S, Diarra B, Traoré B, Shea Y, et al.** Failure to Recognize Nontuberculous Mycobacteria Leads to Misdiagnosis of Chronic Pulmonary Tuberculosis. *PloS one*. 16 mai 2012;7:e36902.
32. **Programme National de Lutte contre la Tuberculose au Mali.** Rapport annuel.2018
33. **Aaron L, Saadoun D, Calatroni I, Launay O, Mémain N, Vincent V, et al.** Tuberculosis in HIV-infected patients: a comprehensive review. *Clin Microbiol Infect*. mai 2004;10(5):388-98.
34. **Lekehal NM.** Co-infection Tuberculose / VIH: aspect épidémiologique et clinique. Thèse de doctorat en sciences médicales. 2017; (1012017006t):80; Disponible sur: <https://theses.univ-oran1.dz/document/1012017006t.pdf>
35. **Stevens WS, Scott L, Noble L, Gous N, Dheda K.** Impact of the GeneXpert MTB/RIF Technology on Tuberculosis Control. *Microbiol Spectr*. 2017;5(1).
36. **Blakemore R, Story E, Helb D, Kop J, Banada P, Owens MR, et al.** Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF assay. *J Clin Microbiol*. juill 2010;48(7):2495-501.
37. **Reed JL, Walker ZJ, Basu D, Allen V, Nicol MP, Kelso DM, et al.** Highly sensitive sequence specific qPCR detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens. *Tuberculosis (Edinb)*. 2016;101:114-24.
38. **Diarra B, Safronetz D, Sarro YDS, Kone A, Sanogo M, Tounkara S, et al.** Laboratory Response to 2014 Ebola Virus Outbreak in Mali. *The Journal of Infectious Diseases*. 15 2016;214(suppl 3):S164-8.
39. **Neyrolles O, Quintana-Murci L.** Sexual Inequality in Tuberculosis. *PLoS Med*. 22 déc 2009;6(12). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2788129/>
40. **Kolappan C, Gopi PG.** Tobacco smoking and pulmonary tuberculosis. *Thorax*. 1 nov 2002;57(11):964-6.
41. **Bini EI, Mata Espinosa D, Marquina Castillo B, Barrios Payán J, Colucci D, Cruz AF, et al.** The Influence of Sex Steroid Hormones in the Immunopathology of Experimental Pulmonary Tuberculosis. *PLoS One*. 10 avr 2014;9(4). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3983091/>

42. **Tidjani C, Sampson KE, Sokpoh H, Grunitzky-Bekele M.** La tuberculose pulmonaire des personnes âgées au CHU de Lome (Togo) de 1982 à 1988. *Méd Afr Noire.* 1991;38(7):518-25.
43. **Carillon S.** Les ruptures de suivi médical des personnes vivant avec le VIH à Kayes (Mali). Approche anthropologique. *Sciences sociales et sante.* 2011;Vol. 29(2):5-39.
44. **Trad S, Brun A-L, Flahault A.** Appareil respiratoire. 2013. Collège national des enseignants de médecine;5-8. Disponible sur: <http://campus.cerimes.fr/semiologie/enseignement/esemio9/site/html/cours.pdf>
45. **Oumar A, Dao S, Goita D, Sogoba D, Dembele JP, Fogue ST, et al.** Characteristics of the hemogram of HIV/AIDS infected adults in Africa: Report of 200 hospital cases in Bamako, Mali. *Louvain Medical.* 1 févr 2009;128:73-8.
46. **Togo S.** Paramètres hématologiques et immunologiques dans la tuberculose latente chez les personnes infectées par le VIH. Thèse de médecine. 2012;(12P08):52. Disponible sur: <https://www.bibliosante.ml/bitstream/handle/123456789/1871/12P08.pdf?sequence=1>
47. **Dikshit B, Wanchu A, Sachdeva RK, Sharma A, Das R.** Profile of hematological abnormalities of Indian HIV infected individuals. *BMC Blood Disord.* 13 août 2009;9:5.
48. **Diallo DA, Baby M, Dembélé M, Keïta A, Sidibé AT, Cissé IA, et al.** Fréquence, facteurs de risque et valeur pronostique de l'anémie associée au VIH/sida chez l'adulte au Mali. *Bull Soc Pathol Exot.* 2003;2(96):123-7.
49. **Bhardwaj S, Almaeen A, Ahmed Wani F, Thirunavukkarasu A.** Hematologic derangements in HIV/AIDS patients and their relationship with the CD4 counts: a cross-sectional study. *Int J Clin Exp Pathol.* 1 avr 2020;13(4):756-63.
50. **Hoën B.** Quand et comment commencer un traitement antirétroviral chez l'adulte infecté par le VIH ? *Journal des Anti-Infectieux.* 2 juin 2011;13(2):117-21.
51. **Organisation mondiale de la Santé.** 2014. Manuel de mise en œuvre du test Xpert MTB/RIF : guide technique et opérationnel : considérations pratiques. Organisation mondiale de la Santé. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/145682>

ANNEXES

ANNEXES

Fiche d'enquête

Questionnaire

1. Numéro du patient
2. Initiale
3. Date de visite
4. Date de naissance
5. Sexe
6. Profession
7. Ethnie
8. Statut matrimonial
9. Résidence
10. Centre qui a référé le malade

Symptômes / Histoire Médicale

- | | |
|----------------------------|-------------------|
| 1. ORL | Oui Non |
| 2. Pulmonaire/respiratoire | Oui Non |
| 3. Cardiovasculaire | Oui Non |
| 4. Gastro/Hépatique | Oui Non |
| 5. Génito-urinaire/Rénale | Oui Non |
| 6. Dermatologique | Oui Non |
| 7. Musculaire | Oui Non |
| 8. Hémato/Lymphatique | Oui Non |
| 9. Endocrino/Métabolique | Oui Non |
| 10. Neurologique | Oui Non |
| 11. Psychologique | Oui Non |
| 12. Autre à préciser..... | |

Résultats du laboratoire

- | | |
|--------------------|--|
| 1. Ziehl Nielsen : | 3+ 2+ 1+ Négatif Non fait |
|--------------------|--|

2. Auramine/Rhodamine : 3+ 2+ 1+ Négatif Non fait
3. Test Xpert MTB/RIF :
- MTB non détectée MTB détecté RIF/Résistant
 - MTB détecté RIF/Sensible Non fait, Raison

Signes Vitaux

1. Poids Kg
2. Taille Cm
3. Température °C
4. Tension artérielle mmhg
5. Fréquence Cardiaque Batt/min
6. Fréquence respiratoire Cycle/min

Facteurs de risques

1. VIH Positif Négatif
2. Tabac Oui Non
3. Alcool Oui Non

Traitement anti-TB antérieur

1. Naïf/nouveau cas Oui Non
2. Catégorie 1 : Oui Non
3. Catégorie 2 : Oui Non
4. Catégorie 3 : Oui Non
5. Seconde ligne : Oui Non

Examens physiques

1. ORL Oui Non
2. Pulmonaire/respiratoire Oui Non
3. Cardiovasculaire Oui Non
4. Gastro/Hépatique Oui Non

- | | |
|----------------------------|-------------------|
| 5. Génito-urinaire/Rénale | Oui Non |
| 6. Dermatologique | Oui Non |
| 7. Musculaire | Oui Non |
| 8. Hémato/Lymphatique | Oui Non |
| 9. Endocrino/Métabolique | Oui Non |
| 10. Neurologique | Oui Non |
| 11. Psychologique | Oui Non |
| 12. Autre à préciser | |

FICHE SIGNALETIQUE

Nom: Diallo

Prénom: Ibrahim B

Téléphone: 71382956

E-mail : dialloboubacarib@gmail.com

Titre de la thèse: Evaluation préliminaire du Multiplexe RT-PCR dans le diagnostic de la tuberculose chez les patients co-infectés par le VIH à Bamako.

Année : Universitaire 2019-2020

Pays : Mali

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Médecine et D'odontostomatologie (FMOS) de Bamako.

Secteur d'intérêt : Pneumologie, Bactériologie, infectiologie.

DATA SHEET

Name: Diallo

First name: Ibrahim B

Phone: 71382956

E-mail: dialloboubacarib@gmail.com

Title of the thesis: Preliminary evaluation of the Multiplex PCR in the diagnosis of tuberculosis in patients co-infected with HIV in Bamako.

Year: Academic 2019-2020

Country: Mali

Defense city: Bamako

Place of deposit: Library of the Faculty of Medicine and Dentostomatology (FMOS) of Bamako.

Area of interest: Pneumology, Bacteriology, infectiology.

SERMENT D'HYPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure.