

MINISTERE DE L'EDUCATION NATIONALE

Direction Nationale
de l'Enseignement Supérieur

ECOLE NATIONALE
MEDECINE ET DE PHARMACIE
du Mali

République du Mali
Un Peuple - Un But - Une Foi

Année UNIVERSITAIRE 1989-1990

N° 29

ETAT DE SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES
ANTITUBERCULEUX DES SOUCHES DE BACILLES
HEBERGES PAR LES MALADES TUBERCULEUX
EN TRAITEMENT A BAMAKO

malades positifs après 2 - 3 mois
malades en rechute et malades en retraitement

THESE

Présentée et Soutenue le Nov 1990 devant
l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie

par Dabatié TANGARA

pour obtenir le grade de Docteur en PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT

JURY

Président : Pr Souleymane Sangaré
Membres : Professeur Abdoulaye Ag Rhaly
Docteur Bah KEITA
Professeur Bréhima Koumaré

Directeur de Thèse

Pr Bréhima Koumaré

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

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI

ANNEE UNIVERSITAIRE 1988 - 1989

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

D.E.R. DE CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

I - PROFESSEURS AGREGES

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

2 - ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

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

3 - ASSISTANTS ET C.E.S.

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

4 -- ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

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

5 - MAITRE ASSISTANT

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

6 - ASSISTANTS

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

7 - CHARGE DE COURS

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

D.E.R. DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1 - PROFESSEURS

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

2 - MAITRES ASSISTANTS

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

3 - DOCTEUR 3ème CYCLE

Docteur Mme CISSE Aminata GAKOU Pharmacie Galénique

4 - ASSISTANT

Docteur Drissa DIALLO Matière Médicale

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1 - PROFESSEURS

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

2 - ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

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

3 - CHARGES DE COURS

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

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1 - PROFESSEURS

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

2 - DOCTEURS D'ETAT

Professeur Yéya Tiémoko TOURE	Biologie
Professeur Amadou DIALLO	Biologie-Génétique

3 - DOCTEURS 3ème CYCLE

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

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1 - PROFESSEURS

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

2 - ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

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

ASSISTANTS ET C.E.S.

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

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

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

JE DEDIE CE TRAVAIL

=====

- A la mémoire de mon Père : feu **Niansountié TANGARA** disparu en 1968
- A la mémoire de ma Mère, feu **Minata COULIBALY**, arrachée à mon affection le Samedi 14 Juillet 1990
- A la mémoire de ma Marâtre, feu **Kadidia DIARRA**, disparue elle aussi en 1988.

Je n'oublierai jamais les sacrifices que vous avez consentis pour moi.

Vos conseils resteront des règles d'or dans ma mémoire. Vous avez toujours mis mes intérêts au dessus des vôtres.

Cette belle éducation que j'ai reçue : le savoir vivre en masse, le comportement envers le prochain, la franchise etc... sont des exemples parmi tant d'autres de votre dévouement pour ma cause.

Recevez de moi ces quelques exemples qui sont les expressions sincères de mon amour indéfectible et de ma profonde gratitude.

QUE VOS AMES REPOSENT EN PAIX. AMEN.

- A la mémoire de ma Fille **Ester TANGARA**

Que ton âme repose en paix.

- A mes Oncles et Tantes

- A mes Cousins et Cousines

- A mes Neveux et Nièces

- A mes Frères et Soeurs : notamment **Bakary TANGARA, Abdramane TANGARA, Assitan TANGARA.**

Pour votre contribution constante, morale et matérielle et votre estime pour moi.

Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude et ma constante disponibilité pour vous.

- A mon Neveu **Amadou N.TANGARA** Chef d'arrondissement,

tu m'as guidé durant toutes mes études
reçois l'expression de mon amour sincère, indéfectible
et de ma constante gratitude.

- A **M. Bréhima TRAORE** au Ministère de l'Education Nationale

Ce travail est le fruit de ton effort. C'est le lieu de t'en remercier et compter sur moi.

MES REMERCIEMENTS VONT

- Au corps Professoral de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali.

Pour la qualité des cours qu'il nous a dispensés.

- A tous le Personnel du Dispensaire Antituberculeux de Bamako, notamment à **M. Seydou COULIBALY, Baba COULIBALY, Dr Mme DIALLO Alimata NACO, et Dr Sambou**

Pour leur bonne collaboration, leur disponibilité constante et leur chaleur humaine : Merci.

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

- A tout le Personnel du service de l'I.N.R.S.P., notamment au Personnel du service de bactériologie et plus précisément à **M. Mamadou DIAKITE, M. Tiewary DOUMBIA Mme Wadia KARAMBE, Mme Albertine et Bakary TRAORE Tidiane TRAORE.**

Pour leur constante solidarité, leur sens de collaboration et leur chaleur humaine.

Qu'il trouve ici les expressions sincères d'un homme qui restera toujours reconnaissant à eux.

- A M. Fatogoma COULIBALY, Gérant de la P.P.M. à Bamako,

En souvenir de sa qualité d'homme, son bon sens de collaboration, et son amour pour le prochain.

Jamais je n'oublierai le sacrifice que tu as consenti pour moi : ton aide matériel et morale, n'ont jamais cessé de me parvenir sans compter les conseils que tu m'as prodigués et l'apprentissage de mon futur métier m'a été d'une large part facilité par toi.

Comme un l'adage de chez nous dit, je cite "A un bon époux, une bonne épouse", c'est pour souhaiter ici, la continuité de tes bons rapports avec ton épouse et saluer par la même occasion le bon sens de cette dernière et son affection pour moi.

Recevez donc de ce peu d'un homme qui vous restera toujours disponible en guise d'expression de mes sincères remerciements.

- A tout le Personnel de la Pharmacie "Jour et Nuit", notamment à **Amadou NIANG, Tonoko SAMAKE, Mahamane TRAORE, Youssouf SAMAKE** et Anta.

Pour leur aimabilité, leur franche collaboration et leur amour pour le prochain : compter sur moi. C'est le lieu de vous en remercier.

- A **Mme Sétou COULIBALY**, ménagère au Point G. qui a bien voulu me loger parmi les siennes quatre années durant sans difficulté.

Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

- A tous mes camarades d'enfance, et camarades de classes du primaire au secondaire, notamment au **Dr Mamadou B. COULIBALY**, compagnon de tous les jours, au **Dr Sékou Diogo KEITA**, au **Dr Bakary C. DIARRA**, à **M. Sékou DIARRA**.

Pour preuve de mon amour indéfectible pour vous.

- Au **Dr Mahambé MAKADJI**, futur Collaborateur et à notre Secrétaire **Mlle Assitan DIAWARA**

Vous m'avez d'une large part facilité ce travail. Soyez en remerciés, et compter toujours sur moi.

Recevez donc, si peu soit - il l'expression de ma sincère gratitude.

R E S U M E

Cette étude a été menée sur la nature et la sensibilité des bacilles tuberculeux chez les anciens malades au Mali, à propos de 150 prélèvements tous positifs à la bacilloscopie et provenant des malades sous traitement. Sur ces 150 ^{crachats} ~~examens~~ positifs mis en culture nous avons pu isoler 55 souches dont 53 ont été identifiées comme étant des M. tuberculosis, une a été identifiée comme étant M. africanum et une autre comme étant M. kansasii (atypique).

Nous avons procédé aux tests de sensibilité sur 45 souches ; mais seules 25 ont pu donner lieu à un antibiogramme interprétable car, certaines n'ont pas passé au repiquage et d'autres ont été contaminées. Parmi ces 25 souches nous avons 6 malades en suivi de traitement et 19 malades en retraitement dont 16 n'ont jamais pu être négativés depuis le début du traitement et 3 malades ont fait une rechute après être déclarés guéris à la fin du premier traitement.

Nous avons constaté que le taux de résistance est très élevé parmi les souches étudiées. En effet, 96 % de ces souches sont résistantes à au moins un antibiotique alors qu'une étude menée dans la même période sur des malades jamais traités a montré un taux de résistance de 37,21 %, ce qui pose le problème d'échec thérapeutique.

Nous avons en particulier noté qu'il s'agit de polyrésistance chez ces malades. En effet, 72,73 % d'entre eux résistent à au moins trois antibiotiques et 27,27 % résistent à deux antibiotiques parmi lesquels l'INH et la SM et/ou la RiF figurent presque toujours. Ce qui fait que le régime proposé est inefficace pour la plupart d'entre eux.

Nous avons pensé qu'il était souhaitable pour la prise en charge de ces malades et leur traitement correcte jusqu'à la guérison d'introduire dans leur régime de nouveaux antibiotiques actuellement proposés dans le traitement de la tuberculose.

Tels que les fluoroquinolones. Cela permettra d'éviter le grossissement du pool des malades porteurs de résistance.

A notre Président de Thèse, Monsieur le Professeur SANGARE Souleymane, Directeur du Centre National d'Immunisation, Médecin Chef de la lutte Antituberculeuse au Mali, Chef du Service de Pneumo Phtisiologie de l'Hopital National du Point G - Bamako.

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

Nous garderons de vous le souvenir d'un grand maître à l'enseignement de rigueur scientifique.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et soyez assuré de notre indéfectible attachement.

A notre maître de thèse Monsieur le Professeur KOUMARE Bréhima, Professeur de Bactériologie à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie, Chef de la Division Recherche de l'Institut National de Recherche en Santé Publique.

Vos immense qualité professionnelles nous ont guidé vers la bactériologie.

Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

A Monsieur KEITA Bah, Spécialiste en Pneumo-Phtisiologie à l'Hopital du Point G, Assistant Chefs de Clinique à l'E.N.M.P.

Nous sommes très heureux de votre présence parmi nos juges malgré vos multiples occupations.

Nous avons pu apprécier à maintes reprises vos qualités humaines et professionnelles.

Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible attachement.

A Monsieur le Professeur Abdoulaye Ag Rhaly, Agrégé en Médecine Interne, Directeur Général de l' I.N.R.S.P. Votre sollicitude permanente, la qualité de vos cours, vos qualités humaines, vos conseils nous ont profondément marqué.

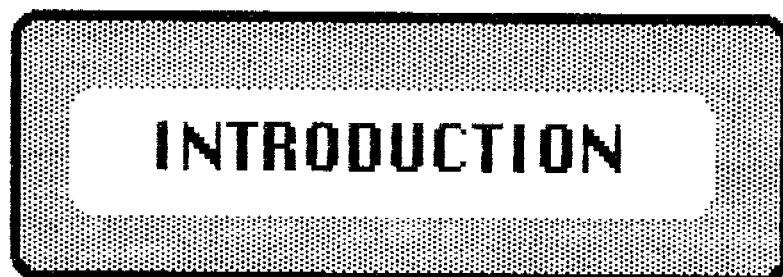
Veillez trouvez ici l'expression de ma gratitude pour avoir accepter de faire partir de ce jury.

S O M M A I R E

I	INTRODUCTION	1
II	HISTORIQUE	5
III	LA PATHOLOGIE TUBERCULEUSE	11
	1- Rappel PHYSIOPATHOLOGIQUE	12
	2- Rappel Immunologique	15
	3- Rappel Clinique	16
IV	ETUDE BACTERIOLOGIQUE DU GENRE MYCOBACTERIUM	18
	I- Nomenclature - Définition et Classification	19
	II- Diagnostic Biologique des Infections à mycobactéries tuberculeuse	23
	1- Prélèvement	
	2- Transport et conservation	27
	3- Examen microscopique	30
	4- Expression des résultats	35
	5- Isolement des mycobactéries	37
	6- Tests biochimiques	44
	7- Tests de sensibilité	48
V	DIFFERENTES DROGUES ET SCHEMAS THERAPEUTIQUES AU MALI	54
	I- Bases bactériologiques du traitement de la tuberculose	55
	II- Conduite du traitement antibiotique	57
	III- Résistance du bacille tuberculeux et ses conséquences	59
	IV- Différentes drogues antibacillaire	61
	V- Schémas thérapeutique au Mali	68

PAGES

VI	EXAMENS BACTERIOLOGIQUES A PRATIQUER AU COURS DE LA TUBERCULOSE PULMONAIRE	74
	1- Examens à pratiquer au cours <i>début</i> de la maladie	75
	2- Examens à pratiquer au cours du traitement	77
	3- Examens à pratiquer en fin de traitement	79
VII	SUJETS ETUDIES - MATERIELS ET METHODES	80
VIII	RESULTATS	91
IX	DISCUSSION	107
X	CONCLUSION	113
XI	BIBLIOGRAPHIE	



INTRODUCTION

Au cours des quinze dernières années, cliniciens bactériologistes et épidémiologistes exigent la seule forme de preuve de la tuberculose que constitue la découverte du bacille tuberculeux, en effet seule cette dernière permet sur le plan individuel la détection des véritables cas de tuberculose et sur le plan collectif, celle de la véritable source d'infection.

La tuberculose reste toujours une maladie actuelle, qui provoque de gros ravages dans les pays en voie de développement, notamment au Mali, chaque année près de 9.000 (2) nouveaux tuberculeux sont dépistés avec tout ce que cela comporte comme préjudices sociaux et économiques.

Au Mali l'endémie tuberculeuse pose un problème majeur de santé publique. En effet 50 % des jeunes de 20 ans ont une réaction tuberculinique positive et on évalue à 3 % l'incidence annuelle de la morbidité.

Ces données épidémiologiques expliquent aisément l'importance et l'urgence d'une action de lutte efficace parfaitement intégrée dans notre stratégie globale des soins de santé primaires et notamment dans la stratégie de la santé pour tous d'ici l'an 2.000.

C'est pourquoi, le Comité Antituberculeux Malien (C.A.M.) en collaboration avec certains organismes internationaux, notamment l'Union Internationale de lutte Contre la Tuberculose (U.I.C.T.) et l'organisation pour la Coopération et la Coordination Contre les Grandes Endémies (O.C.C.G.E.) a entrepris une vaste action de lutte à l'échelle nationale basée sur la prophylaxie, le dépistage et le traitement de la tuberculose.

Dans ce même but, une connaissance des données bactériologiques concernant surtout la nature des espèces bactériennes responsables de la maladie et leur sensibilité aux antibiotiques s'impose. Car c'est elles qui conditionnent l'efficacité et l'importance du dépistage et du traitement, à quoi serviraient le dépistage et le traitement les plus précoces si ils ne sont pas utilisés à bon escient ?

Peu d'études ont été faites dans ce contexte et c'est dans le souci d'apporter notre aide à la Politique globale du Gouvernement en matière de soins de santé primaire, plus particulièrement à la lutte antituberculeuse au Mali, que nous avons réalisé ce travail.

Il porte sur cent cinquante (150) malades dont les expectorations contenant des bacilles Acido-Alcool-Résistants visibles à l'examen microscopique après coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen ont été collectées au dispensaire antituberculeux de Bamako (D.A.T.) pour être étudiées dans le service de Bactériologie de l'Institut National de Recherches en Santé Publique (I.N.R.S.P.).

Pour réaliser ce travail, nous avons adopté le plan suivant :

- I - Historique**
- II - La Pathologie Tuberculeuse**
- III - Etude Bactériologique du Genre Mycobactérium**
- IV - Différentes Drogues et Schémas Thérapeutiques au Mali**
- V - Examens Bactériologiques à pratiquer au cours de la Tuberculose Pulmonaire**
- VI - Sujets- Matériels et Méthodes**
- VII - Résultats**
- XIII- Discussions**

IX - Conclusion.

N.B. : Rappelons que tout se tient ; la tuberculose ne sera vaincue nulle part sans une coordination étroite entre les Techniques de détail et les stratégies d'ensemble./-



HISTORIQUE

HISTORIQUE

La tuberculose est aussi ancienne que le monde ; des momies Egyptiennes, notamment celles de Toutakhamon seraient sans doute porteuses de séquelles de tuberculose.

Mais d'une manière générale cette histoire peut - être divisée en quatre grandes étapes . (6)

1 _ ETAPE OBSCURE (6)

La tuberculose est longtemps restée une pathologie méconnue des hommes, malgré les multiples tentatives de demystification aux quelles se sont livrés les chercheurs des temps anciens. Mais grâce au courage inlassable de différentes générations de cliniciens, d'anatomistes et de biologistes etc... l'on est parvenu à découvrir toutes les faces de cette maladie invalidante, tant sur le plan clinique, épidémiologique, physiologique, bactériologique, thérapeutique, qu'immunologique.

Mais cependant il faut reconnaître que la lutte a duré pendant plusieurs décennies pour ne pas dire des siècles.

En effet, si Hipocrate fait mention d'infections broncho-pulmonaires et pleurales dans ses écrits, comme d'ailleurs Galien, Coelius Aurelius a quant à lui tenté de décrire toutes les formes cliniques de la tuberculose.

Ces lignes resteront inchangées jusqu'au début du 19e siècle à l'âge rayonnant de l'empire Romain où Arétée de Cappadoce apporta quelques changements célèbres.

Ce fut alors le tour de Girolamo Fracastor de Verone, de renover entièrement la notion traditionnelle de phtisie en plaçant la maladie dans le même cadre que les autres maladies infectieuses ; tout en incriminant les micro-organismes dans la pathogénicité et la transmission interhumaine de la maladie.

Malgré tous ces travaux, l'immaturité des connaissances scientifiques de l'heure et la déficience des infrastructures sanitaires, aucune confirmation ou précision de ces données ne fut possible.

Mais les chercheurs ne se lassèrent pas ; car les prémices des prédecesseurs étaient prometteurs.

Alors intervient Gaspard-Laurent Rayle qui réussit à décrire les granulations miliaires et plusieurs aspects anatomiques et la phtisie tuberculeuse ; et cela encore au 19e siècle.

Laennec par la mise au point patiente d'un procédé nouveau et adquat, l'auscultation et avec la confrontation methodique des données qu'elle fournit avec les constatations macroscopiques faites au cours des autopsies, il a pu échaffauder non seulement la phtisiologie, mais l'essentiel de la pneumologie moderne, sur des bases anatomo-cliniques irremplaçables. Il a pu affirmer l'unicité du processus tuberculeux à travers des atteintes bien dissemblables et en l'absence de toute possibilité de contrôles histologiques ou bactériologiques.

Il reçoit la confirmation en 1825 de Louis dans "Recherche Anatomo-clinique sur la Phtisie".

En 1865 Villemin montre que la maladie est virulente et liée à un germe extérieur à l'organisme, par inoculation des broyats de lésions tuberculeuses à des animaux de laboratoire.

Mais il a fallu attendre 1882 pour découvrir le bacille tuberculeux, suite aux travaux de Robert KOCH. C'est pourquoi, le bacille a pris son nom, "Bacille de Koch" ou "B.K."

En 1885 Roetgen découvre les rayons X permettant le diagnostic de la tuberculose. Ce fut le début d'une nouvelle ère.

2 - ETAPE BACTERIOLOGIQUE (6)

En 1885 Robert Koch fait la découverte du bacille tuberculeux humain : Mycobactérium tuberculosis ; réussit sa culture sur serum de boeuf coagulé et mit au point la tuberculine (broyats de fragments antigeniques).

A la même période Ehrlich signale la propriété fondamentale des mycobactéries : L'Acido - Alcoolo - Resistance.

En 1885, c'est à dire à la même année, Ziehl et Neelsen mirent au point une méthode de coloration spécifique aux mycobactéries, basée sur leur Acido - Alcoolo - Résistance. Cette méthode de coloration a reçu plusieurs dérivés.

A partir de 1896 de nombreuses autres mycobactéries sont découvertes. Il s'agit notamment de :

- MYCOBACTERIUM LEPRÆ : ou bacille de Hansen du nom de celui qui l'a découvert. Il est responsable de la lèpre humaine.
- MYCOBACTERIUM BOVIS : agent de la tuberculose chez les bovidés. Mais il peut aussi affecter l'homme dans certains cas.
- Certaines mycobactéries atypiques, qui accidentellement peuvent affecter l'homme, notamment dans certaines parties de l'Europe, d'Afrique et d'Amérique.
- Des mycobactéries exclusivement pathogènes pour les animaux (oiseaux, muridés, etc...).
- Des mycobactéries saprophytes inoffensifs pour l'homme normal, mais pouvant affecter certains groupes d'hommes tels que les immuno-déprimés (sidéens, etc...).

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

3 ETAPE VACCINALE (6)

Camette et Guérin inventent le B.C.G. au début de ce siècle. Il s'agit d'un bacille tuberculeux bovin atténué. Il a été obtenu en 13 ans après 230 repiquages successifs sur pomme de la terre glycerinée et billiée. Ce traitement a fait perdre à la souche de bacille sa virulence tout en respectant son pouvoir immunogène, C'est à dire son pouvoir protecteur.

En 1921 Calmette et Guérin ont réalisé avec succès la première vaccination au B. C. G. chez l'homme.

4 - ETAPE THERAPEUTIQUE (6)

En 1944 Waksman découvre le premier antibiotique actif sur le bacille tuberculeux : la Streptomycine.

A partir de cette date de nombreux autres antibiotiques antituberculeux furent découvertes. Parmi ceux-ci notons plus particulièrement la famille des aminosides tels que : la kanamycine, etc...

Et plus tard une autre série d'antibiotiques actifs, principalement sur le bacille tuberculeux ont vu le jour. Ce sont l'isoniazide vendu sous le nom de Rimifon en 1952, la rifampicine en 1967 classés parmi les antituberculeux majeurs.

En 1982, la commission de traitement de l'Union International Contre la tuberculose a défini une liste 6 médicaments essentiels dans la tuberculose : I.N.H, Rifampicine, la SM, TB1, l'Ethanbutol, et le Pyrazinamide.

III - PATHOLOGIE TUBERCULEUSE

I - RAPPEL PHYSIOPATHOLOGIQUE (38-2)

Les affections tuberculeuses chez l'homme sont très variées ; et les lésions qu'elles déterminent sont très polymorphes. D'autant plus que les facteurs intervenant dans la détermination de ces lésions sont nombreuses :

- * Le nombre de bacilles infectants et leur vitesse de croissance au niveau des différentes localisations.
- * La résistance de l'hôte et les phénomènes d'hypersensibilité au cours de l'infection.

Cependant, la localisation pulmonaire est de loin la plus fréquente, puisqu'elle est la plus contagieuse. Elle est aussi la plus grave par son caractère invalidant et son impact sur la vie socio-économique.

Cette forme évolue en plusieurs étapes :

- Aussitôt après l'arrivée des bacilles tuberculeux dans les alvéoles pulmonaires par la voie aérienne, deux éventualités peuvent se présenter :

* Si le sujet est immunologiquement compétent, les bacilles sont captés par les macrophages tissulaires et sanguins. Il se développe une réaction fibreuse impliquant les lymphocytes et les cellules épithélioïdes aboutissant à la formation d'une gangue calcifiée autour des bacilles qui sont du coup privés d'oxygène. Si cette gangue persiste, la multiplication des bacilles peut s'arrêter là. Et la gangue peut évoluer vers une résorption totale ou une sclérose. Les symptômes disparaissent peu à peu et l'individu peut guérir sans faire une tuberculose maladie. Seulement, la radiographie montre des traces au niveau des poumons et l'intra-dermo-réaction (I.D.R.) reste positive : c'est le cas heureux.

Mais malheureusement tel n'est pas toujours le cas.

* Si le sujet est soumis à des conditions défavorables : affaiblissement de l'organisme pour plusieurs raisons, qui produit une décalcification de la gangue suivie de la libération des bacilles, ou encore une forte exposition aux bacilles ; le sujet peut subir une réinfestation. Et la maladie évolue vers le second stade.

On observe alors deux types de lésions :

. Un type exsudatif : caractérisé par une réaction inflammatoire aigüe avec infiltration liquidienne suivie d'oedème pulmonaire avec présence de macrophages, de polynucléaires et plus tard de monocytes autour des bacilles tuberculeux. Si la multiplication s'arrête là, il y a évolution vers la résorption.

Si au contraire la multiplication continue, on assiste à une troisième figure de la maladie.

. Un type productif : caractérisé par une lésion granulomateuse chronique, constituée par trois zones : une zone centrale avec de nombreuses cellules géantes contenant des bacilles tuberculeux, une zone médiane constituée par des cellules épithélioïdes et une zone périphérique formée par des fibroblastes, des lymphocytes et des monocytes.

Plus tard la zone centrale se nécrose et il se produit une homogénéisation solide qui aboutit à la formation du caseum qui est le processus fondamental de la tuberculose.

Alors qu'au début de la caséification, il existe un très grand nombre de bacilles dans la lésion, on assiste à une diminution progressive et importante du nombre de bacilles vivants lorsque la caséification est terminée.

La lésion caséuse solide peut évoluer vers une résorption, soit vers une liquéfaction qui s'accompagne d'une véritable flambée bacillaire suivie d'une collection de pus dans une cavité délimitée par une coque scléreuse qui la sépare du parenchyme pulmonaire. Cette cavité peut s'ouvrir dans une bronchiole

et s'accompagne d'une élimination des parties ramollies : c'est la caverne pulmonaire qui explique la chronicité de la tuberculose, sa marche envahissante et sa contagiosité surtout dans les familles où il y a promiscuité, car le malade tousse beaucoup en ce moment, et émet des crachats purulents riches en bacilles tuberculeux.

En effet cette caverne ne guérit pas spontanément et il se produit une multiplication bacillaire intense dans le revêtement nécrotique de sa coque et ces bacilles se répandent par les bronches. On assiste à une forme disséminée dans le tissu pulmonaire. Il peut y avoir des complications graves, telles que : pulmonaire, hémorragie capillaire ou artérielle diffuse, atelectasie ; des complications cardiaques surtout dans les formes bilatérales, suite à une augmentation des résistances périphériques et aboutissant à une insuffisance cardiaque droite. Il y a aussi des complications métaboliques, par la formation d'une substance amyloïde se déposant au niveau du foie et des reins. Cette substance est mise en évidence en histopathologie par une coloration spécifique d'une biopsie du tissu atteint au rouge congo. La substance amyloïde est le résultat d'une réaction du type Ag - Ac consecutive à la perte de certaines cellules de l'organisme hôte de leur caractère antigénique normal au contact de la suppuration et deviennent du coup des cellules étrangères à l'hôte.

Par ailleurs, dans certains cas spécifiques, comme chez les immunodéprimés, les bacilles dès leur contact avec les alvéoles pulmonaires ne rencontrent aucune résistance immunitaire de la part de l'hôte. Alors ils sont disséminés immédiatement soit par la voie hématogène ou par la voie lymphogène. On assiste à une tuberculose disséminée atteignant même le foie, la rate et les reins etc... Sans traitement cette dernière forme est aussi rapidement mortelle que la troisième figure de l'évolution de la maladie.

II - RAPPEL IMMUNOLOGIQUE (2-28)

La tuberculose est une maladie auto-immune. En effet, l'entrée et le développement du bacille tuberculeux au sein d'un organisme humain immunologiquement compétent entraîne l'apparition de deux types de réactions chez ce dernier.

* Une réaction spécifique due à la sensibilisation de l'organisme aux constituants du bacille, en particulier à ses protéines. Ce phénomène plus connu sous le nom d'hypersensibilité retardée, est à médiation cellulaire. Elle est d'ailleurs mise à profit dans le diagnostic clinique de la tuberculose. C'est la réaction tuberculique ou intra-dermo-réaction (I.D.R.). Elle se manifeste par une rougeur apparaissant au point d'inoculation 48 heures après l'injection intradermique de la tuberculine. Mais cette méthode ne peut pas servir de diagnostic confirmation. Elle ne peut que donner une suspicion. Cette première réaction s'accompagne dans les cas heureux ^{de} l'acquisition d'une immunité par le sujet contre les bacilles tuberculeux.

Toute fois il faut nuancer cette question, car la dite immunité n'est pas totale c'est à dire que l'individu peut bel et bien faire une tuberculose par suite d'un apport endogène ou exogène de bacilles tuberculeux viables. Mais seulement, les formes de tuberculoses observées sont les plus souvent bénignes.

. Par ailleurs il existe dans certains cas graves des réactions du type antigène-anticorps (Ag - Ac), mettant au prise les cellules de la défense d'un même organisme. :

- Les antigènes étant des cellules de la défense dénaturées par la suppuration, et les anticorps sont des cellules valides de la défense.

Il faut enfin noter que les différentes phases du processus tuberculeux dépendent en grande partie des réactions de la défense de l'organisme contre les bacilles tuberculeux.

Les cellules de la défense impliquées dans ces réactions sont les lymphocytes, les macrophages, les polynucléaires et les monocytes.

D'autre part, on a pu mettre cette réaction de la défense à profit, dans l'élaboration d'un vaccin contre la tuberculose. C'est le B.C.G. (Bacille de Calmette et Guérin). C'est un vaccin vivant obtenu après 230 répiquages d'une souche bovine du bacille.

III - RAPPEL CLINIQUE (2)

Les manifestations cliniques de la tuberculose sont très multiples et variées du fait que les mycobactéries peuvent siéger au niveau de tous les organes. En effet, chaque localisation possède sa symptomatologie particulière. Mais l'organe cible le plus fréquent chez l'homme est le poumon. Et cela est subordonné à un certain nombre de facteurs dont :

- L'infection à mycobactérie la plus courante chez l'homme est due soit à mycobacterium tuberculosis hominis ou à mycobacterium africanum ou à mycobacterium bovis.

- Les mycobactéries sont des germes aérobies.

- Enfin le poumon est un organe bien aéré, d'où la fréquence des infections pulmonaires aiguës et chroniques.

Les autres localisations telles que ganglionnaires, rénales, osseuses, rachidiennes etc... sont relativement moins fréquentes et moins contagieuses que la forme pulmonaire.

L'infection tuberculeuse se traduit par un état de fatigue, une faiblesse générale, une chute pondérale accompagnée de fièvre intermittente (bien être le matin puis élévation de température le soir, surtout dans la nuit). Tels sont les principaux signes révélateurs de la maladie.

Cependant, dans quelques cas graves on peut noter une hémoptysie, une atelectasie par bouchure des bronches, des céphalées et une dyspnée d'effort ect....

Par ailleurs, dans les cas de fortes suppurations on peut décéler le dépôt d'une substance amyloïde au niveau de certains tissus. Ce diagnostic se fait en histopathologie, par une coloration spécifique du tissu atteint au rouge congo.

D'autre part, le dépôt de cette substance au niveau de certains organes vitaux de l'organisme peut engendrer des troubles métaboliques consécutifs à une insuffisance hépatique ou rénale.

Il faut noter pour autant que certaines formes malignes se présentent sous une allure grippale, avec une petite altération de l'état général, et une hypersudation donnant l'impression d'un paludisme.

La primo-infection qui est généralement génératrice de symptômes mineurs peut souvent être associée à une typhoïde. Dans ce dernier cas, on assiste à des symptômes importants (fièvre violente et inversée) : c'est la typhobacillose landouzi.

Mais à chaque phase de son évolution, de la formation de la gangue à celle de la caverne, la tuberculose peut être diagnostiquée par la radiographie pulmonaire qui donne différentes images selon le niveau d'évolution de la maladie.

La scopie pulmonaire peut aussi donner une idée de la maladie.

Mais le plus souvent la radiographie et la radioscopie ne peuvent servir de moyens de diagnostic vu la complexité de la pathologie pleuro-pulmonaire.

10 - ETUDE BACTERIOLOGIQUE
DU GENRE MYCOBACTERIUM

I - NOMENCLATURE - DEFINITION ET CLASSIFICATION

1) Nomenclature (28)

Les mycobactéries appartiennent à la classe des actinomycétales, à l'ordre des mycobactériales, à la famille des mycobactériaceae, et au genre mycobacterium.

Le genre comprend plusieurs espèces :

2) Définition (9)

Les mycobactéries sont des bacilles droits, ou légèrement incurvés, asporulés et sans conidie, immobiles Acido-Alcoolo-Résistants. Excepté Mycobacterium fortuitum, qui porte souvent quelques branchements, les mycobacteries ne présentent pas de ramifications.

Elles sont difficilement colorables par la méthode de Gram, (bien qu'elles soient Gram-positives).

3) Classification (9)

Les mycobactéries constituent un groupe très complexe et varié. Cependant, on peut les ranger dans deux groupes principaux.

3-1 Mycobactéries non cultivables sur milieux artificiels

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

3-2 Mycobactéries cultivables sur milieux artificiels

Ce groupe peut - être divisé en deux sous groupes.

3-2-1 Mycobactéries tuberculeuses

Elles sont responsables de la tuberculose chez l'homme et l'animal.

- Mycobactérium tuberculosis : responsable de la tuberculose pulmonaire dans plus de 90 % des cas.

- Mycobacterium africanum : Il est l'agent de la tuberculose pulmonaire et extra-pulmonaire dans certaines régions d'Afrique. Sa différence réside en particulier dans sa lenteur de culture par rapport à mycobactérium tuberculosis (28 jours ou plus).

- Mycobactérium bovis : il est responsable de formes pulmonaires et extra-pulmonaires chez les bovidés et dans certains cas chez l'homme.

- Le B.C.G. (Bacille de Calmette et Guérin) est une forme avirulente de M. bovis souvent isolé de certaines adénites survenues à la suite d'une vaccination. Contrairement à M. bovis il donne des colonies rugueuses et dysgoniques.

3-2-2 Mycobactéries atypiques

C'est le groupe le plus fourni en espèces.

Elles sont généralement saprophytes, mais occasionnellement pathogènes pour l'homme immunologiquement affaibli, d'où leur nom de mycobactéries opportunistes. Elles ne peuvent donc être incriminées dans une pathologie humaine que si elles sont isolées à plus d'une fois et en grand nombre. Elles sont généralement responsables d'affections viscérales et ganglionnaires ou d'ulcérations cutanées selon les espèces.

Elles se répartissent en deux séries de quatre groupes pour la première et de deux groupes pour la seconde.

3-2-2-1 Mycobactéries Atypiques responsables d'Affections profondes et ganglionnaires

1- Mycobactéries Photochromogènes : Elles ont une croissance lente à 37°C et donnent des colonies dont la pigmentation n'apparaît qu'à la lumière, exemple : Mycobactérium Kansasii (affections pulmonaires et ganglionnaires).

- Mycobactéries Scotophotochromogènes : croissance lente à 37°C, colonies pigmentées à la lumière et à l'obscurité, exemple : Mycobactérium scrofulaceum (adenites de l'enfant), Mycobactérium aquae (contaminant de laboratoire, et atteintes pulmonaires très rares).

- Mycobactéries non chromogènes : croissance lente à 37°C, leurs colonies ne sont pas pigmentées ; qu'elles soient exposées à la lumière ou à l'obscurité.

Exemple : Mycobacterium avium (tuberculose aviaire), Mycobacterium batteyi et intracellularis (affections pulmonaires ou ganglionnaires et parfois osseuses), Mycobacterium terrae (non pathogène) et Mycobactérium Xenopei (affections pulmonaires).

3-2-2-2 Mycobactéries Atypiques responsables d' affections cutanées

Exemple : Mycobacterium marinum : Il est photochromogène. Il a une croissance rapide à 37°C (ulcérations cutanées dans les pays tempérés au cours des baignades).

- Mycobacterium Ulcerans : il est scotophotochromogène, sa croissance est lente à 37°C (ulcérations cutanées profondes à tendance phagedénique dans les pays tropicaux).

.../...

II - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES INFECTIONS A MYCOBACTERIES TUBERCULEUSES

1 - Prélèvement des Produits Pathologiques (42)

Leur nature varie en fonction de l'état infectieux, et les résultats n'ont de valeur que s'ils ont été correctement effectués.

1-1 Chez les malades pulmonaires : sujets qui crachent

Deux éventualités sont à envisager selon que le malade est hospitalisé ou non.

1-1-1 Sujet Hospitalisé

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

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

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

1-1-2 Sujet non Hospitalisé

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

possibilités : ou bien confier au malade un récipient à prélèvement et le récupérer le matin, ou bien faire cracher le malade au laboratoire. La première de ces possibilités est la meilleure, mais elle nécessite outre deux déplacements du malade ou d'un de ses proches, la fourniture de récipient fermant hermétiquement. Pour ces deux raisons, il est préférable surtout, dans les laboratoires spécialisés et à gros débit, disposant d'un local réservé à cet effet de recueillir l'expectoration sur demande, c'est à dire, faire cracher les malades sur place au laboratoire. Le rendement de cette dernière manière de faire n'est pas très inférieur à celui de l'expectoration du matin au réveil, surtout si l'on a soin de répéter les examens comme on doit le faire systématiquement.

1-2 Sujets qui ne crachent pas

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

Avant de pratiquer un tubage gastrique ou tout autre prélèvement, on s'assure donc que le sujet ne peut réellement pas émettre d'expectoration. Le cas des enfants est spécial : ceux-ci ne savent pas cracher. Deux procédés sont couramment employés : le tubage gastrique et l'expectoration provoquée. Un troisième très répandu dans certains pays, peut également être employé avec profit : l'écouvillonnage laryngé.

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

1-2-1 Sujets hospitalisés

1-2-1-1 Tubage gastrique : Il est le meilleur mode de prélèvement de l'expectoration chez les malades qui ne crachent pas visant à recueillir les mucosités bronchiques dégluties pendant le sommeil, il doit être pratiqué le matin au réveil, avant que les contractions de l'estomac chassent le contenu.

Le tubage lui même se fait à l'aide d'un tube semi-souple de fort diamètre (tube de Faucher), stérile, lubrifié à l'huile de vaseline stérile. On introduit le tube

latéralement dans la cavité buccale puis dans l'oesophage lors d'une déglutition. En faisant respirer profondément le malade, on pousse le tube dans l'oesophage puis dans l'estomac, entre les efforts de régurgitation. Grâce au petit entonnoir dont est muni l'extrémité libre du tube, on introduit alors 100 à 200 ml d'eau distillée stérile tiède dans l'estomac.

Après quelques instants, on abaisse l'extrémité du tube ce qui permet par siphonnage de recueillir avec le liquide introduit les mucosités présentes dans l'estomac. Le produit du tubage, ou mieux du lavage gastrique est recueilli dans un récipient stérile.

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

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

1-2-1-2 Expectoration provoquée - Lavage bronchique

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

1-2-1-3 Écouvillonnage Laryngé : Le but de l'écouvillonnage laryngé est de recueillir les mucosités d'origine bronchique présentes dans le larynx. Mais l'écouvillonnage laryngé ne ramenant qu'une faible quantité de matériel ne peut être utilisé avec des chances raisonnables de succès que pour la recherche du bacille tuberculeux en culture et non au microscope. De même il ne peut être un examen isolé, mais doit être fait en séries.

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

1-2-2 Sujet non Hospitalisé

Chez le sujet non hospitalisé qui ne crache pas, la recherche du bacille tuberculeux est difficile. Le tubage gastrique est souvent un geste inutile, le contenu de l'estomac étant depuis longtemps évacué lorsque le tubage est fait à moins que celui - ci ne soit fait à domicile au lit du malade. Les deux modes de prélèvements conseillés dans ce cas sont l'expectoration provoquée et l'écouvillonnage laryngé.

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

1-3 Prélèvement des Produits autres que le Crachat

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

Pour les produits contaminés (urines, pus d'abcès fistulisés, etc...) la culture ne sera possible qu'après décontamination : le prélèvement n'a donc pas besoin d'être fait stérillement ni d'être placé dans un récipient stérile. Tout comme pour les crachats, il suffit de disposer d'un récipient simplement propre. En ce qui concerne les urines, il est préférable de faire porter l'examen sur les premières urines émises le matin, et non sur les urines de 24 heures, beaucoup plus contaminées. La répétition des examens trois jours de suite est particulièrement recommandée.

A l'inverse, pour les produits pathologiques non contaminés (liquide pleural et péritonéal clair, épanchements articulaires, liquide céphalo-rachidien, etc..) le prélèvement fait d'une manière rigoureusement aseptique, doit être placé non moins aseptiquement dans un récipient stérile (tube à essai bouché au coton ou à vis, stérilisé au poupinel ou à l'autoclave). La culture pourra être effectuée directement, le produit pathologique étantensemencé tel quel sur des milieux de culture ou dilué au 2/5e avec de l'eau distillée stérile. On évitera ainsi le temps de contamination, qui s'accompagne toujours d'une destruction importante des bacilles.

2 - Transport et Conservation des Produits (9)

Avant d'aborder le problème de transport, il convient de rappeler quelques caractères du bacille tuberculeux ; notamment sa vitalité : c'est à dire sa résistance aux agents physiques et chimiques.

2-1 Vitalité du Bacille Tuberculeux (6)

2-1-1 CHALEUR : Le bacille tuberculeux est aussi sensible à la chaleur que les autres bactéries non sporulées. Il est détruit par l'autoclavage à 120°C pendant 30 minutes, et par la chaleur sèche au four pasteur à 175°C pendant trente minutes. Et un séjour prolongé à une température de plus de 40°C diminue considérablement sa vitalité.

2-1-2 FROID : Au réfrigérateur à +4°C, le bacille tuberculeux n'est pas affecté dans sa vitalité pendant cinq à huit jours. A -35°C, surtout à -76°C, il n'y a pas

de diminution notable dans la vitalité du bacille pendant plusieurs mois.

2-1-3 DESSICATION:les bacilles tuberculeux sont assez résistants à la dessiccation,à l'abri de la lumière solaire,ils peuvent survivre pendant plusieurs mois.L'association dessiccation refroidissement(lyophilisation) est le meilleur procédé de conservation.

2-1-4 LUMIERE:le bacille tuberculeux perd rapidement de sa vitalité sous l'action de la lumière solaire ou des rayons ultra-violetts d'où l'absolue nécessité de conserver les pots contenant les prélèvements dans les locaux sombres à l'abri de la lumière du jour.

2-1-5 PRODUITS CHIMIQUES : Le bacille tuberculeux est très sensible à l'alcool à 90°C, qui le détruit en 5 minutes. Il est relativement sensible aux acides (acide sulfurique, et autres) aux bases (soude) eau de javel, crésyl.

2-2 TRANSPORT (9)

Pour le bactériologiste, le transport des crachats et autres produits pathologiques présente les mêmes difficultés que leur conservation.

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

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

- * La réduction maximale du temps de transport
- * L'action du froid : les produits pathologiques étant placés dans des boîtes isothermes contenant de la glace
- * L'adjonction de produits chimiques : le phosphate tri-sodique ou le bromure de cétypyridium, on réduit la pullation des germes saprophytes en plaçant dans le

récepteur collecteur : du phosphate trisodique à 10 % (23 % de $\text{PO}_4\text{Na}_3, 10\text{H}_2\text{O}$) ou du bromure de cétyle pyridium à 1 % quantité égale au crachat. Ces deux produits détruisent lentement les germes saprophytes en respectant le bacille tuberculeux. Après plusieurs jours de contact, le crachat peut - être cultivé après centrifugation sans autre décontamination.

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

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

2-3 CONSERVATION (9)

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

A la température ambiante, il se produit une pullulation de la flore associée, toujours nombreuse dans les crachats. Cette pullulation qui entraîne en quelques jours la liquéfaction complète du produit pathologique (crachat, pus ect...) a un double inconvénient. D'une part, il gêne la mise en évidence microscopique du bacille, qui ne peut plus être recherché sur le frottis d'une parcelle purulente, mais doit obligatoirement l'être sur le culot de centrifugation du produit liquéfié. Cet inconvénient est mineur, car cette homogénéisation spontanée ne diminue pas la colorabilité du bacille tuberculeux.

Par contre, la pullulation de la flore associée à une influence très défavorable sur la culture du bacille tuberculeux. Entraînant des variations pH et surtout la libération d'enzymes bactériens, il affecte considérablement la vitalité du bacille. A ce premier effet néfaste, s'ajoute celui que va exercer la

décontamination puissante qu'il faudra effectuer avant la mise en culture. Pour ces multiples raisons, tout produit qui ne peut-être examiné dès émission doit être gardé au froid à +4°C, notamment dans un réfrigérateur. Cela permet une conservation relativement satisfaisante pendant plusieurs semaines. Cependant, dans la mesure du possible l'examen immédiat est très préférable à tout.

D'autre part, les produits du tubage gastrique, toujours acides (par HCl stomacal) doivent être neutralisés avec soit de la soude ou du bicarbonate de soude en présence de quelques gouttes d'indicateurs de pH.

Il faut enfin des mesures de protections du personnel travaillant, aucune personne étrangère au service ne doit avoir accès au local où sont gardés les produits . Et les fenêtres et les portes doivent être grillagées de manière à empêcher la pénétration des mouches, d'autres insectes, et les animaux à l'intérieur du local.

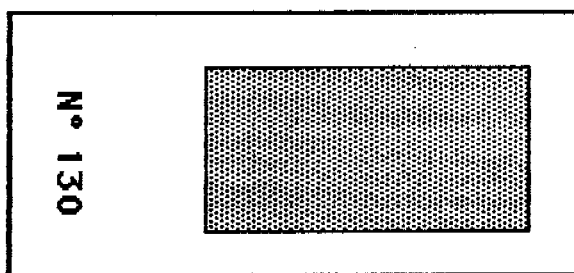
Donc la conservation est une opération bactériologique très décisive dans le diagnostic des infections à mycobactéries.

3 - Examen Microscopique

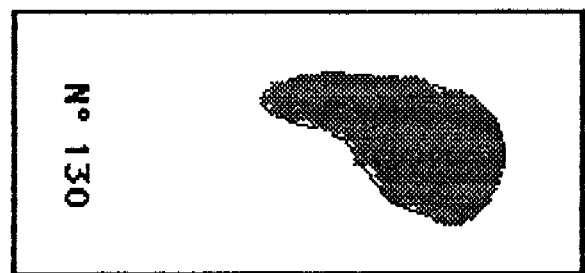
3-1 Confection des Frottis (33)

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

SCHEMA I : TRAITEMENT DU CRACHAT



FROTTIS BIENFAIT



FROTTIS MAL FAIT

3-2 Fixation du Frottis

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

3-2-1 Fixation à la chaleur

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

3-2-2 Fixation à la chaleur et à l'alcool

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

3-3 Coloration (43)

Toutes les méthodes de colorations sont basées sur la propriété fondamentale des mycobactéries : L'Acido - Alcoolo - Résistance

Diverses méthodes de coloration sont proposées. Nous nous limiterons aux colorations les plus couramment utilisées.

3-3-1 COLORATION DE ZIEHL - NEELSEN

3-3-1-1 Réactifs

3-3-1-1-1 Fuchsine phéniquée de Ziehl
Fuchsine basique 1g
Alcool absolu 10ml

Dissoudre par agitation, ajouter :

Phénol aqueux (obtenu par addition de 100ml d'eau distillée stérile à 1kg de phénol cristallisé chauffer au bain marie jusqu'à dissolution et refroidir) 5,5g

Puis en continuant à agiter :

eau distillée 100ml

Laisser reposer 24 heures, puis filtrer.

3-3-1-1-2 Bleu de Méthylène phéniqué.

Bleu de méthylène 2g
Alcool absolu 10ml

Dissoudre par agitation, ajouter :

Phénol aqueux 2,2g

Puis en continuant à agiter :

Eau distillée 100ml

Laisser reposer 24 heures, puis filtrer.

3-3-1-1-3 Acide Sulfurique au 1/4.

Placer 75ml d'eau distillée dans un récipient en verre pyrex. Ajouter très lentement 25ml d'acide sulfurique pur pour analyse.

Comme il se produit un fort dégagement de chaleur, il est recommandé de placer le récipient dans lequel on effectue le mélange dans un cristalliseur rempli d'eau froide.

3-3-1-2 Technique :

Elle a lieu en trois temps :

. Placer la lame sur un support en métal ou en verre. La couvrir de fuchsine de Ziehl filtrée extemporanément sur papier. Chauffer doucement jusqu'à émission de vapeur, au moyen de la veilleuse d'un bec Bunsen ou de la flamme d'un coton monté, trempé dans l'alcool. Laisser agir 10 minutes (5 - 15 minutes). Chauffer la lame trois fois. Eviter l'ébullition et le dessèchement du colorant. Si nécessaire, rajouter de la fuchsine pour que la lame en soit toujours couverte.

. Rejeter le colorant. Laver immédiatement à l'eau ordinaire. Recouvrir d'acide sulfurique dilué au 1/4, durée 3 minutes, laver. Recouvrir d'alcool à 90 % durée 5 minutes, laver. Le frottis est alors incolore, ou légèrement coloré en rose.

.Recolorer pendant 30 secondes par la solution de bleu de méthylène filtrée extemporanément sur papier. Laver à grande eau. Laisser sécher. La préparation est prête à l'examen microscopique.

3-3-2 Méthode à Froid : (Kinyoun modifiée)

3-3-2-1 REACTIFS

3-3-2-1-1 Fuchsine Phéniquée de Kinyoun

Dissoudre 4g de fuchsine basique dans 20ml d'éthanol à 90° ou 95°GL et additionner 100ml d'une solution aqueuse de phénol à 8 %.

3-3-2-1-2 Acide - Alcool

Ajouter lentement 3ml d'acide chlorhydrique dans 97ml d'éthanol.

3-3-2-1-3 Contre colorant au bleu de méthylène :

Dissoudre 0,3g de bleu de méthylène dans 100ml d'eau distillée.

3-3-2-2 Technique de coloration

Elle est identique à celle de Ziehl Neelsen, sauf que la fuchsine de Kinyoun se laisse pendant 5 minutes sans chauffer.

3-3-1-3 Méthode de coloration Fluorescente :

3-3-1-3-1 PRINCIPE : Il consiste à colorer les bacilles avec des substances organiques excitables par une lumière de longueur d'onde déterminée et qui après excitation, émettent une lumière de longueur d'onde plus élevée.

Les colorants les plus courants sont excités par la lumière rouge ou verte.

Exemple : Fluorescéine, Rhodamine, Orange d'acridine, Auramine et Rouge thiazine.

3-3-1-3-2 REACTIF :

. Auramine Phéniqué :

Dissoudre 0,1g d'auramine dans 10ml d'éthanol à 90 ou 95°GL, puis additionner à une solution à 3g de phénol dans 87ml d'eau distillée. A stocker dans une bouteille de verre foncé.

. Acide - Alcool :

Additionner 0,5ml d'acide chlorhydrique dans 100ml d'alcool à 70 %.

. Contre Colorant :

Dissoudre 0,01g d'orange d'acridine ou 0,1g de rouge de thiazine dans 100ml d'une solution aqueuse à 0,1 % de phosphate dissodique anhydre (Na₂HPO₄).

3-3-1-3-3 TECHNIQUE :

. Couvrir le frottis avec la solution d'auramine phéniquée et laisser colorer pendant 15 minutes.

. Rincer avec un filet d'eau du robinet.

. Couvrir le frottis avec la solution d'acide - alcool pendant 2 minutes.

. Rincer avec un filet d'eau du robinet.

- . Couvrir encore le frottis avec le contre colorant pendant 2 minutes.
- . Rincer et laisser sécher : le frottis est prêt pour l'observation microscopique.

3-4 LECTURE DES LAMES (42)

- Après la coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen : la recherche des bacilles acido-alcoolo-résistants exige un bon microscope et demande de la patience. On utilise un objectif à immersion (X 100) et des oculaires de 10. L'objectif ne doit pas toucher le frottis de crainte d'éventuelles souillures des lames suivantes.

Pour ce faire placer la lame sur la platine du microscope sous contrôle du regard, abaisser l'objectif à immersion (GX 100) jusqu'au ras de la lame dans la gouttelette d'huile. Puis en regardant dans les oculaires, remonter progressivement l'objectif à l'aide de la vis macrométrique, dès que l'image apparaît, faire la mise au point au à la vis micrométrique.

L'examen systématique de la lame se fera en aller et retours successifs sur toute la hauteur du frottis. L'examen d'un champ doit toujours commencer par la périphérie pour terminer le centre. La lecture d'une lame prend 20 à 30 minutes. Les bacilles acido-alcoolo-résistants apparaissent comme de fins bâtonnets francs longs de 0,5 à 1 et large de 0,5 à 0,6 , droits ou légèrement incurvés, tigrés ou non, isolés ou en amas avec des extrémités arrondies.

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

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

Mais chaque fois qu'il y a du doute quant à la nature réel d'un point lumineux avec l'objectif faible (10), on doit revenir à un objectif de grossissement plus élevé (X 40) pour lever le doute.

On n'hésitera pas non plus à récolorer par la méthode de Ziehl une lame douteuse. Cette méthode, bien qu'elle soit plus rapide que la précédente doit être réservée aux laboratoires spécialisés vu le coût de l'appareillage et le risque d'erreurs, étant

.../...

donné que les expectorations contiennent souvent beaucoup de produits naturels acido-alcool-résistants et excitables autres que les bacilles.

4. - EXPRESSION DES RESULTATS

Les résultats doivent être toujours quantifiés, c'est à dire préciser le nombre de bacilles. Ceci permet en effet de se faire une idée sur la richesse des lésions, donc la gravité de la maladie, et la contagiosité du sujet. Par ailleurs, les bacilloscopies quantitatives répétées au cours du traitement permettent de juger de l'efficacité du traitement. En effet, le traitement efficace fera chuter rapidement le nombre de bacilles dans les lésions, alors qu'avec un traitement inefficace le nombre restera stationnaire ou augmentera. Donc la responsabilité du microscopiste est immense, celui là doit éviter de mettre des résultats fantaisistes que compromettront gravement la santé du malade et par la même occasion la confiance qui a été placéé en lui.

Donc, chacun doit avoir des méthodes de colorations et de lecture standardisées.

Les résultats tels que :

Bacilloscopie positive ou bacilloscopie négative sont à proscrire.

Les résultats doivent être notés comme suit :

Tableau : Codification des résultats de la Bacilloscopie

Nombre de Bacilles Acido-Alcool-Résistants	Noter	Répondre	Concentration Bacillaire par crachat
0/300 Champs	Négative	(-)	(-) de 1000
1-2/300 Champs	Nbre Observé	+ ou ? -	environ 5000
1-10/100 Champs	Nbre/100 Champs	(+)	environ 5000 à 10000
1-10/10 Champs	Nbre/10 Champs	(+ +)	environ 50 000
1-10/Champ	Nbre/Champ	(+ + +)	environ 100 000
10 ou plus/Champ	Sup. à 10 par champs	(+ + + +)	500 000 ou plus

5 ISOLEMENT DES MYCOBACTERIES (42)

Contrairement à l'examen microscopique direct, la mise en culture est de technique plus ou moins complexe ; plus lente dans sa réponse (3 semaines environ), plus coûteuse parce que nécessite d'avoir un appareillage complexe, et d'un prix de revient élevé, nécessite en outre une commande systématique de milieux de culture. Par contre sa sensibilité est plus étendue : 20 % de positivité supplémentaire par rapport à la microscopie directe.

Et une seule culture permet une identification précise des bacilles décélés, et elle seule autorise à parler de bacilles de Koch.

Du fait de la lenteur de leur croissance et de leurs exigences nutritives, les milieux utilisés pour l'isolement des mycobactéries doivent, d'une part inhiber la croissance des autres flores associées qui se développent plus vite, d'autre part, être riches et capables d'apporter assez d'éléments stables nécessaires à leur métabolisme.

En effet, les mycobactéries ont une croissance lente, elles sont aérobies strictes, cultivent à une température optimum de 35 à 37°C et à un PH de 6,7 à 6,9.

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

Nocard et Roux obtiennent une croissance satisfaisante du bacille en 1887 par l'adjonction de glycérine en proportion convenable (5 à 8 %). Depuis lors, de nombreux milieux ont été élaborés. On distingue deux groupes : les milieux liquides et les milieux solides.

5-1 Milieux Solides :

ce sont les plus utilisés pour l'isolement des mycobactéries à partir des produits pathologiques. Actuellement deux milieux solides sont les plus couramment utilisés :

5-1-1 Milieu de Loewenstein - Jensen (43)

* COMPOSITION

- Solution 1

Phosphate monopotassique	2,4g
Sulfate de magnésium	; 0,24g
Citrate de Magnesium	0,60g

Asparagine	3,60g
Glycérine	12ml
Eau distillée	600ml

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

Il existe actuellement des milieux de Loewenstein-Jensen déshydratés sur le marché, préparés jusqu'au stade des oeufs qu'il suffit d'ajouter.

5-1-2 Milieu de coletsos-base :

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

5-2 Milieux Liquides : (43)

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

COMPOSITION :

Asparagine	5g
Phosphate diacide de potassium	5g
Citrate de magnésium (à 14H ₂ O)	1,5g
Sulfate de Potassium	0,5g
Glycérol	20g
Eau distillée	100ml

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

Milieu de DUBOS :

Milieu simple intentionnellement pauvre. Le bacille tuberculeux y pousse facilement alors que les autres germes poussent mal.

Hydrolysate de Caséine (poudre)	2g
Citrate de Fer Ammoniacal	0,05g
Chlorure de Calcium	0,0005g
Sulfate de Magnésium (à 7H ₂ O)	0,01g
Sulfate de Zinc	0,0001g
Sulfate de cuivre	0,0001g
Eau distillée	900ml

amener à pH 6,8. Stériliser à +115°C pendant 20 minutes puis ajouter :

Twen 80 en solution à 10 %	5ml
Albumine de boeuf (fraction V de cohn) en solution	100ml

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

Asparagine	2g
Phosphate mono acide de sodium (12H ₂ O)	6g
Phosphate diacide de potassium	1g
Glycérol (ou glucose)	4g

Milieu de SULA enrichi en alamine, c'est le seul d'ailleurs qui contient du vert malachite.

5-3 Techniques de culture

Le protocole diffère selon la nature des produits pathologique à ensemer. En effet, les différents produits faisant l'objet d'une culture peuvent être répartis en deux grands groupes : les produits non contaminés et les produits contaminés.

5-3-1 Produits non contaminés :

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

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

5-3-2 Produits contaminés :

Les produits contaminés qui associent une ou plusieurs flores aux mycobactéries doivent faire l'objet d'un traitement énergétique avant d'être ensemencés.

Ce traitement qui est improprement appelé homogénéisation du produit pathologique, se divise en deux temps qui d'ailleurs se font simultanément :

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

Plusieurs méthodes de décontamination ont été décrites :

5-3-2-1 Méthode de Petroff (41)

Les produits pathologiques placés dans des récipients stériles fermant hermétiquement, sont mélangés suivant leur viscosité avec deux à quatre fois leur volume de solution stérile de soude à 4 % (4g de soude dans 100ml d'eau stérilisée

à l'autoclave après dissolution). Après agitation vigoureuse on porte à l'étuve à 37°C pendant 30 minutes puis on centrifuge à 3 000 tours/minute pendant 15 à 20 minutes. Après décantation du liquide surnageant, on neutralise le culot de centrifugation par quelques gouttes d'acide chlorhydrique ou d'acide sulfurique à 4 % en présence d'un indicateur coloré (le bleu de tournesol ou le bleu de bromothymol).

Le produit final est ensemencé en raison de quelques gouttes par tube de milieu de culture.

5-3-2-2 Méthode de Pétroff modifiée :

2ml de crachat étant placés dans un tube à centrifuger, on ajoute 3ml d'une solution normale de soude. On agite pendant 30 minutes sur un agitateur (type Kohn), on ajoute ensuite une solution d'acide phosphorique à 0,6 % en présence de 2ml de bleu de bromocrésol au 1/150e jusqu'à apparition de nuages jaunes persistant au sein de la coloration bleue. On centrifuge à 3000 tours/minute pendant 30 minutes puis on ensemence le culot à raison de quelques gouttes par milieu de culture.

5-3-2-3 Procédé au Lauryl sulfate de sodium (47)

5-3-2-3-1 REACTIFS

* Produits **décontaminants**

Lauryl sulfate de Na pur	30g
Hydroxyde de Na pur en pastille	10g
Eau distillée (quantité suffisante pour)	1000ml

on dissout le lauryl sulfate de Na dans l'eau chaude et on ajoute ensuite l'hydroxyde de Na. Le flacon est gardé à l'étuve à 37°C.

* Solution neutralisante avec indicateur de pH

Poudre de Bromocrésol à 1/250	2ml
Acide phosphorique pur	1,5ml
Eau distillée q.s.p.	1000ml

5-3-2-3-2 PROTOCOLE

A 2ml de produit pathologique, on ajoute 3ml de solution mouillante alcaline. Le mélange peut être fait directement dans un tube à centrifuger cône, stérile de 45 à 50ml bouché. On agite une demi-heure sur un agitateur de Kahn au minimum. Puis on verse dans le tube 30ml de la solution neutralisante (cette solution jaune vire au bleu au contact de la solution alcaline. La neutralité est obtenue lors du retour à la coloration jaune).

On centrifuge à 3000 tours/minute et le culôt de centrifugation est ensemencé à raison de quelques gouttes par tube de milieu de culture.

Cette méthode offre l'avantage d'une bonne homogénéisation donc une bonne décontamination et moins de surinfection des cultures.

5-3-2-4 Méthode au Bromure de Cétyl Pyridinium (5)

5-3-2-4-1 Réactifs : Préparation

* Solution de bromure de cétyl pyridinium 1 % dans l'eau distillée 10g
Ajouter cette solution à 1l d'eau distillée. Répartir cette solution dans des tubes à vis et stériliser dans la cocotte minute (les tubes sont légèrement dévissés et maintenus en position verticale dans la cocotte minute) pendant 30 minutes environ. Laisser refroidir et revisser les tubes pour éviter une recontamination, puis les ranger dans une boîte. La solution peut se garder une semaine.

5-3-2-4-2 PROTOCOLE

A un certain volume de produit pathologique, on ajoute aseptiquement 2ml (environ 4 fois leur volume) de bromure de cétyl pyridinium (Br.Cq) et agiter vigoureusement le mélange.

Laisser agir pendant 24 heures à la température ambiante (22°C) ou à l'étuve à 37°C. On pourra procéder à 2-3 agitations manuelles pendant les 24 heures ou au moins une seconde fois avant de quitter le laboratoire de façon à assurer une bonne homogénéisation, et permettre au bromure de pénétrer dans les moindres parcelles et de détruire les bactéries saprophytes.

Centrifugé ou non, le produit final est prêt à êtreensemencé à raison de 5 gouttes ou 0,25ml par tube de milieu de culture.

NB : De toutes les méthodes de décontamination, il semble que la méthode de Petroff est la plus brutale c'est à dire la plus toxique pour le bacille tuberculeux.

Par ailleurs après ensemencement les milieux de cultures sont mis à l'étuve à 37°C, en position verticale pour les milieux liquides et en position horizontale pour les milieux solides. Ces dernières sont incomplètement fermés pour que le liquide d'ensemencement s'évapore. Après quoi, ils sont hermétiquement fermés.

Les tubes sont examinés chaque jour pendant au moins une semaine pour décélérer les poussées précoces et les contaminations.

Tous les tubes contaminés doivent être écartés. Après une semaine de contrôle, on procède à un contrôle par semaine. Au delà de quatre mois, tous les tubes stériles seront mis dans la cocotte pour être stérilisés, lavés et réutilisés tandis que les poussées feront l'objet d'études ultérieures.

5-4 ASPECT DES COLONIES (9)

Les mycobactéries cultivables donnent sur les milieux de culture des colonies dont l'aspect est caractéristique et variable d'un milieu à l'autre. Cependant, les milieux solides sont les mieux indiqués à cet effet ; notamment le milieu de Loewenstein-Jensen sur ce milieu on observe que :

- Mycobacterium tuberculosis :

Elle donne en 2 à 3 semaines des colonies de 2 à 3mm de diamètre ayant un aspect verruqueux, torsadé, chou-fleur, tandis qu'elles augmentent de volume et prennent une teinte crème beige ; elles sont dites eugoniques.

- Mycobacterium africanum :

Donne des colonies disgoniques, rugueuses, poussant lentement sur Loewenstein-Jensen. Sa croissance peut être stimulée par addition de pyruvate de sodium. Les colonies sont plates, mates avec un mamelon central sur les vieilles cultures.

- Mycobacterium bovis :

Donne des colonies lisses disgoniques non pigmentées, blanchâtres.

- Le B.C.G. :

Donne des colonies similaires à celles de bovis. Mais ces colonies sont rugueuses, eugoniques, pigmentées en crème beige et apparaissent en 10 à 30 jours comme M. tuberculosis.

- Les mycobactéries atypiques donnent des colonies variables selon les espèces.

6- TESTS BIOCHIMIQUES : (43)

* Il existe cinq principaux caractères biochimiques permettant l'identification des mycobactéries/:

- Présence de la catalase à 22° et à 70°
- Présence de la peroxydase
- Production d'acide nicotinique
- Réduction des nitrates
- Transformation du citrate de fer ammoniacal.

* La catalase est un enzyme qui décompose l'eau oxygénée en libérant de l'oxygène. Sa présence dans une souche donnée se traduit par un dégagement gazeux lorsque l'on met cette souche en présence d'eau oxygénée.

* La peroxydase est un enzyme qui catalyse les oxydations à partir de l'eau oxygénée. Sa présence se traduit par un noircissement des colonies lorsque celles-ci sont mises en contact avec l'eau oxygénée et d'un substrat oxydable (catéchol, Benzidine, ect...).

* Les souches de Mycobacterium tuberculosis produisent une importante quantité d'acide nicotinique dont la présence est révélée par le bromure de Cyanogène.

* Les mycobactéries présentent une nitrate réductase leur permettant de réduire les nitrates en nitrites (NO₃ ---->NO₂).

* Certaines mycobactéries ont la possibilité d'accumuler les sels de fer et de les transformer en oxyde de fer de couleur brune.

Parmi ces cinq caractères, nous nous limiterons à la recherche de trois principaux :

6-1 RECHERCHE DE LA CATALASE : A 22° ET 70° (43)

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

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

- Eau distillée 170ml
- Tween 80 10ml
- Eau oxygénée à 110 volumes 10ml

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

Ou encore on pourra préparer et conserver séparément la solution de tween 80 et d'eau oxygénée à 110 volumes au réfrigérateur à l'abri de la lumière à (+4°) Dans ce dernier cas le mélange Tween 80 et eau oxygénée sera fait extemporanément au moment de l'emploi. Le mélange se faisant à volume égal. On prendra soin d'ajouter toujours l'eau oxygénée au tween 80. La lecture se fera après cinq minutes de contact.

- * Pas de mousse : résultat négatif, absence de catalase
- * Hauteur de mousse de moins de 4 cms : résultat douteux
- * Hauteur de mousse de plus de 4 cms : résultat positif.

Toutes les mycobactéries synthétisent de la catalase sauf certaines souches isoniazido-résistantes de M. bovis et M. tuberculosis : il existe différentes souches distinguables les unes des autres par leur sensibilité thermique.

6-2 RECHERCHE DE LA NIACINE (TEST DE KONNO) (4)

A l'inverse de la recherche de la catalase et de la peroxydase, la recherche de la production d'acide nicotinique se fait sur les seules cultures âgées de plus d'un mois de manière que la production d'acide nicotinique soit assez importante pour être facilement décélable. Le test doit se faire sous une hotte ou devant une fenêtre ouverte.

TECHNIQUE :

Méthode 1 : A une culture d'au moins quatre semaines sur milieu de Loewenstein-Jensen, ajouter 1ml d'eau distillée ou de solution saline physiologique stérile. Si la culture est confluyente, briser la masse cellulaire pour faciliter l'extraction du milieu (la niacine est extracellulaire et s'accumule dans le milieu).

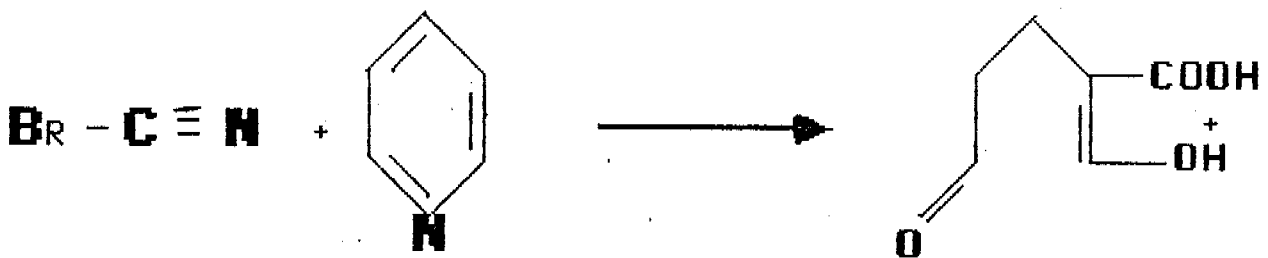
Incliner le tube de façon à ce que le liquide couvre toute la surface du milieu. Laisser l'extraction se faire pendant au moins 60 minutes.

Prélever 0,5 ml de l'extrait et transférer dans un tube à essai à vis. Ajouter 0,5 ml de la solution d'aniline : Celle-ci doit être incolore. Puis ajouter 0,5 ml de la solution de bromure de Cyanogène.

On doit observer la formation d'une couleur jaune immédiatement si la réaction est positive.

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

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



Bromure de
Cyanogène

Niacine

Aldehyde Carboxy
Glutaconique

amines
aromatiques

Base de Schiff Colorée

6-3 RECHERCHE DE LA NITRATE REDUCTASE : (43)

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

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

6-3-1 Matériels :

Tubes à essai à vis (16 X 125mm)

Pipettes Pasteur stériles ou pipettes de 1ml

Anse

Bain-marie à 37°C ou bloc sec à température constante.

6-3-2 Réactifs :

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

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

R1 : Une dilution à 1/2 d'acide chlorhydrique dans l'eau (10 ml de HCL +10 ml d'eau).

R2 : 0,2mg de sulfanilamide dans 100 ml d'eau distillé.

R3 : 0,1g de bichlorhydrate de N-(1-naphthyl)-éthylène-diamine dans 100ml de H₂O.

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

6-3-3 Technique :

Mettre dans un tube à essai 2 à 3 gouttes d'eau distillée. Puis émulsionner dans l'eau une anse pleine de colonies prélevées à la surface du milieu solide. Ajouter 2ml de la solution de NaNO₃.

Agiter pour mieux mélanger et incubé à 37°C au bain - marie pendant 2 heures. Enlever du bain - marie et ajouter ensuite une goutte de réactif R1, une goutte de R2 et une goutte de R3.

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

7 - TESTS DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

Plusieurs méthodes ont été décrites dans ce but. Mais nous nous limiterons à celle dite "Méthode des Proportions". Puisqu'elle est simple, pratique, de plus elle demande moins d'appareillage et ne nécessite pas un personnel hautement qualifié.

7-1 Principe de la Méthode des proportions (9)

Le principe de la méthode des proportions est de mesurer la proportion des bacilles résistants dans une souche de bacilles tuberculeux. Pour cela, le test doit permettre de savoir le nombre total des bacilles qui ont donné naissance à une colonie et parmi eux le nombre de bacilles qui sont résistants à chaque antibiotique du test.

On ensemence trois dilutions bacillaires qui sont de cent en cent fois plus faibles les unes que les autres : 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} sur milieu de Loewentein-Jensen. avec antibiotiques incorporés avant la coagulation et deux témoins pour chaque dilution sans antibiotique incorporé. Les tubes contiennent 7ml de milieu.

Les dilutions sont choisies de manière que l'une d'entre elles donne naissance à des colonies comptables. En confrontant le nombre de colonies obtenues sur les milieux avec antibiotique (bacilles résistants) avec le nombre de colonies obtenues sur les milieux sans antibiotique (bacilles résistants et sensibles ou encore population bacillaire totale), on obtient facilement la proportion de bacilles résistants qui existent dans la souche testée. En deçà d'une certaine proportion dite proportion critique, la souche est classée comme sensible et au delà comme résistante.

Le seuil critique varie suivant les antibiotiques.

L'utilisation des milieux fabriqués, il y a plus de deux mois est à éviter.

7-2 Préparation des dilutions bacillaires et ensemencement :

Le test comporte deux variantes, l'une dite méthode directe et l'autre dite méthode indirecte.

7-2-1 Antibiogramme Indirect :Il est réalisé à partir de la primo-culture des produits sur milieu de Loewenstein-Jensen.

. Préparation des dilutions bacillaires :

On prélève avec une spatule en platine de 16 X 16mm, des parcelles du plus grand nombre possible de colonies de cette culture. On place le prélèvement dans un ballon stérile de 5 cm de diamètre contenant une trentaine de billes de verre de 3mm de diamètre. Agiter fortement le ballon 20 à 30 secondes, puis ajouter 5ml d'eau distillée stérile lentement ; le ballon continuant à être agité. Préléver la suspension bacillaire et placer la dans un tube de 22mm de diamètre, on ajuste alors l'opacité de la suspension, par adjonction d'eau distillée stérile à l'opacité d'une suspension bactérienne à 1mg/ml, cette dernière sert d'étalon.

Cet étalon fourni sur demande par l'institut Pasteur est une suspension de B.C.G. en eau standardisée à 1mg/ml et placée dans un tube scellé de 22mm de diamètre. L'étalon doit être gardé au frigidaire à +4°, mais replacé à la température du laboratoire 15 minutes avant l'emploi.

A partir de la suspension-mère, on prépare des dilutions 10^{-1} mg/ml, 10^{-1} mg/l ect... jusqu'à 10^{-6} mg/l en procédant par échelonnages décimétriques.

Les dilutions 10^{-1} , et 10^{-3} et 10^{-5} seront ensemencées sur milieu avec antibiotique et sur milieu sans antibiotique.

Pour cela on prélève 1ml de la solution mère à l'aide d'une pipette pasteur et l'on mélange ce ml à 9ml d'eau distillée stérile dans un second tube de 22mm, on a ainsi la dilution 10^{-1} mg/l, de la même manière partant de la dilution 10^{-1} mg/l On prépare la dilution 10^{-2} mg/l et ainsi de suite jusqu'à 10^{-6} mg/l. Mais on prend soin de changer de pipette après chaque dilution.

N.B. : Les dilutions à ensemencer changent dans le cas de certains tests spécifiques ; tel que le test au P.Z.A. par exemple .

. Ensemencement : (43)

Avec chacune des dilutions, (10^{-1} , 10^{-2} , et 10^{-3}) on ensemence deux tubes de milieu sans antibiotique et un tube de milieu par concentration d'antibiotiques. La semence est de 0,2ml/tube.

Après ensemencement, les tubes sont bouchés au coton, mais non capuchonnés. Ils sont placés à l'étuve à 37°C légèrement inclinés sur l'horizontal : le liquide doit couvrir toute la surface du milieu sans toucher le coton. Quand tout le liquide d'ensemencement est évaporé, les tubes sont munis d'un capuchon en caoutchouc puis remis à l'étuve jusqu'à la lecture des résultats.

7-2-2 Antibiogramme Direct (9) : il se fait directement avec le produit pathologique lui-même. Le frottis étant fait, on place 3 à 4 ml de crachat ou de culot de centrifugation du liquide de tubage gastrique dans un mortier stérile. On y ajoute une quantité de soude à 6 % et trois gouttes de teinture de tournesol. Le mélange est broyé au pilon pendant 1 à 2 minutes, puis enveloppé d'un papier stérile et placé à l'étuve à 37°C pendant 50 minutes. Il est ensuite neutralisé par quelques gouttes d'acide sulfurique à 15 %. Le produit ainsi obtenu n'est pas centrifugé, il constitue la dilution 1.

Les dilutions à préparer et les dilutions à ensemercer, dépendent du nombre de bacilles visibles sur le frottis à l'examen microscopique direct. Elles sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Le mode de préparation des dilutions, le nombre de tubes de milieux à ensemercer par dilution, le volume de la semence par tube (0,2ml), enfin la manipulation des tubes après ensemencement, sont exactement les mêmes que lors d'un test indirect.

.../...

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

TABLEAU : Titrage direct : dilution à ensemer en fonction du nombre de bacilles visibles à l'examen microscopique.

7-3 Lecture et Interprétation des Résultats : (43)

La lecture des résultats est effectuée à deux reprises : au 28e et au 42e jour. Mais dans la majorité des cas, les résultats sont donnés au 28e jour.

La lecture des résultats consiste en trois opérations très simples :

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

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

Exemple : Un test direct a fourni pour la streptomycine le résultat suivant :

Dilutions	Tubes		Tubes à Streptomycine		
	Témoins		2 μ g	4 μ g	10 μ g
10 ⁻¹	∞	∞	∞	8	1
10 ⁻²	18	26	4	0	0

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

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

Le tube avec streptomycine a reçu la même semence sur les 22 bacilles viables que chaque tube avec streptomycine ensemencé avec la dilution 10⁻² a reçu, combien ont donné des colonies ? C'est à dire, combien de bacilles se sont montrés résistants à la streptomycine ?

Sur le tube 2 μ g/ml on trouve 4 colonies.

Donc $\frac{4}{22}$ 20 % des bacilles de la souche se sont montrés résistants à

2 μ g/ml de streptomycine.

Sur le tube 4 μ g/ml ensemencé avec la dilution 10⁻² on ne trouve aucune colonie.

Par contre, sur le tube 4 μ g/ml ensemencé avec la dilution 1, on trouve 8 colonies. il faut donc calculer d'abord le nombre de bacilles viables que chaque tube ensemencé avec la dilution 1 a reçu. Si chaque tube ensemencé avec la dilution 10⁻² a reçu 22 bacilles viables, chaque tube ensemencé avec la dilution 1 a reçu 100 X 22 = 2.200 bacilles viables.

Sur les 2.200 bacilles viables a reçu le tube à 4 μ g/ml de streptomycine avec la dilution 1. 8 on donné des colonies. La souche contient donc $\frac{8}{2.200} = 0,4$ % de

De même la souche contient $\frac{1}{2.200} = 0,1 \%$ de bacilles résistants à 10 de streptomycine.

Les proportions critiques pour la streptomycine à $2 \mu\text{g/ml}$, $4 \mu\text{g/ml}$ et 10 étant respectivement 50-100 %, 10 % et 0,1 %.

On en déduit que la souche testée est sensible à la streptomycine à $2 \mu\text{g/ml}$, 4 et à la streptomycine à $10 \mu\text{g/ml}$.

RESULTATS DES TESTS DE SENSIBILITE : (43)

Une souche normale de bacilles tuberculeux est sensible aux principaux antibiotiques antituberculeux (isoniazide, streptomycine, éthambutol, rifampicine, éthionamide, P.A.S.).

Les souches de B.C.G. sont naturellement résistantes à la D. Cyclosérine.

Les mycobactéries atypiques sont résistantes au P.A.S.

Mycobacterium bovis a une résistance naturelle partielle au P.A.S. et au Tbl totale au Pyrazinamide.

**U. LES DIFFERENTES DROGUES ET
LES SCHEMAS THERAPEUTIQUES
UTILISES AU MALI**

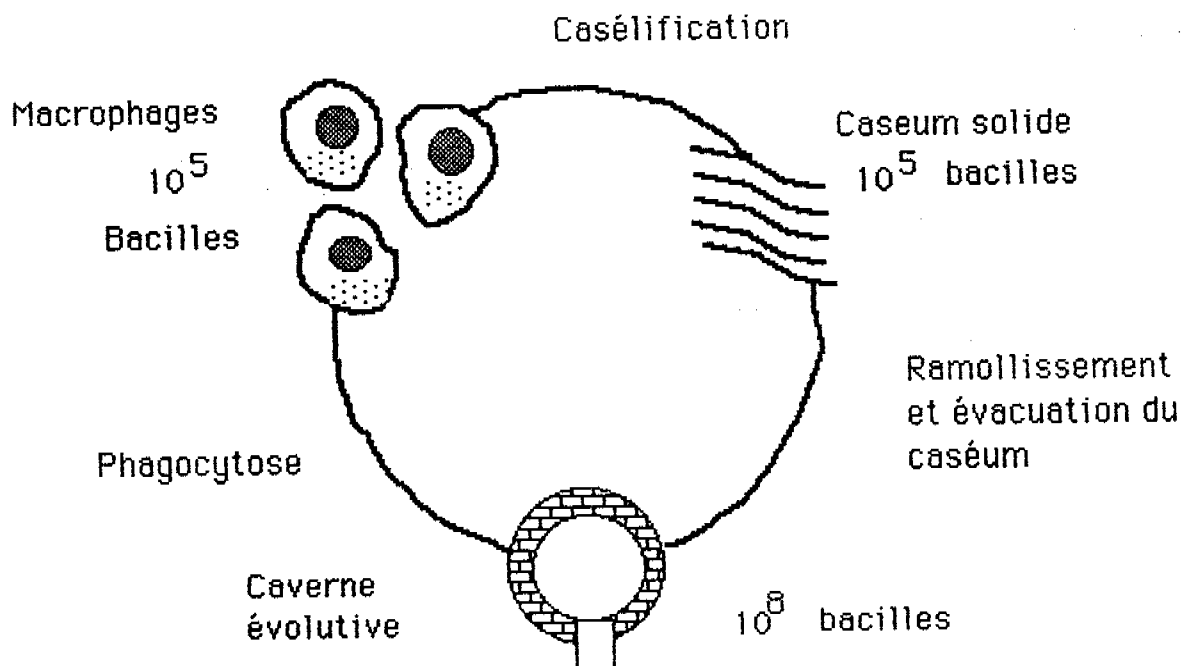
1) BASES BACTERIOLOGIQUES DES TRAITEMENTS DE LA TUBERCULOSE : (40)

1°) Les Differentes Populations Bacillaires des Lésions Tuberculeuses

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

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

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



2°) Efficacité des Principaux Antibiotiques Antituberculeux : (40)

In vitro, dans un tube de milieu de culture, on peut étudier le comportement des bacilles tuberculeux mis en présence des concentrations d'antibiotiques identiques à celles qui sont réalisées in vivo. Ce comportement permet d'apprécier l'activité des différents antibiotiques. Certains antibiotiques tuent une grande partie des bacilles, on dit qu'ils sont bactéricides : c'est le cas de la streptomycine, de l'isoniazide et de la rifampicine. D'autres, qui sont dits bactériostatiques, ont surtout comme effet d'arrêter la multiplication des bacilles : c'est le cas de l'éthambutol et du P.A.S. D'autres enfin, n'ont pas d'effet dans un milieu de culture à pH neutre : c'est le cas du pyrazinamide (Piraldine*). L'étude in vitro donne donc des renseignements précis sur l'activité respective des principaux antibiotiques antituberculeux.

Au cours de la tuberculose humaine, malheureusement, les bacilles ne se comportent pas tous comme dans un tube de milieu de culture. Seuls ceux qui forment l'importante population en multiplication active dans les parois cavitaires peuvent être assimilés aux bacilles cultivés in vitro. La streptomycine, l'isoniazide, et la rifampicine sont donc les antibiotiques les plus efficaces sur ces bacilles. Les autres, qui forment les deux populations à multiplication ralentie, répondent très différemment aux antibiotiques. Ainsi, le pyrazinamide, l'isoniazide et la rifampicine sont les plus actifs sur les bacilles qui sont dans un environnement acide à l'intérieur des macrophages tandis que seule la rifampicine est efficace sur les bacilles à multiplication ralentie au sein des foyers caséux.

.../...

Antibiotiques	Activité sur les Bacilles		
	A multiplication Active	A multiplication Bactériostatique	
		A pH Acide	A pH Neutre
Streptomycine	+++	0	0
Isoniazide	++	+	0
Rifampicine	++	+	+
Ethambutol	+	+	0
Pyrazinamide	0	++	0

TABLEAU II Activité des Principaux Antibiotiques Antituberculeux selon l'état métabolique des bacilles.

- +++ : Très active
- ++ : Active
- + : Bactériostatique
- =
- 0 : Activité nulle.

II - LA CONDUITE DU TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE : (40)

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

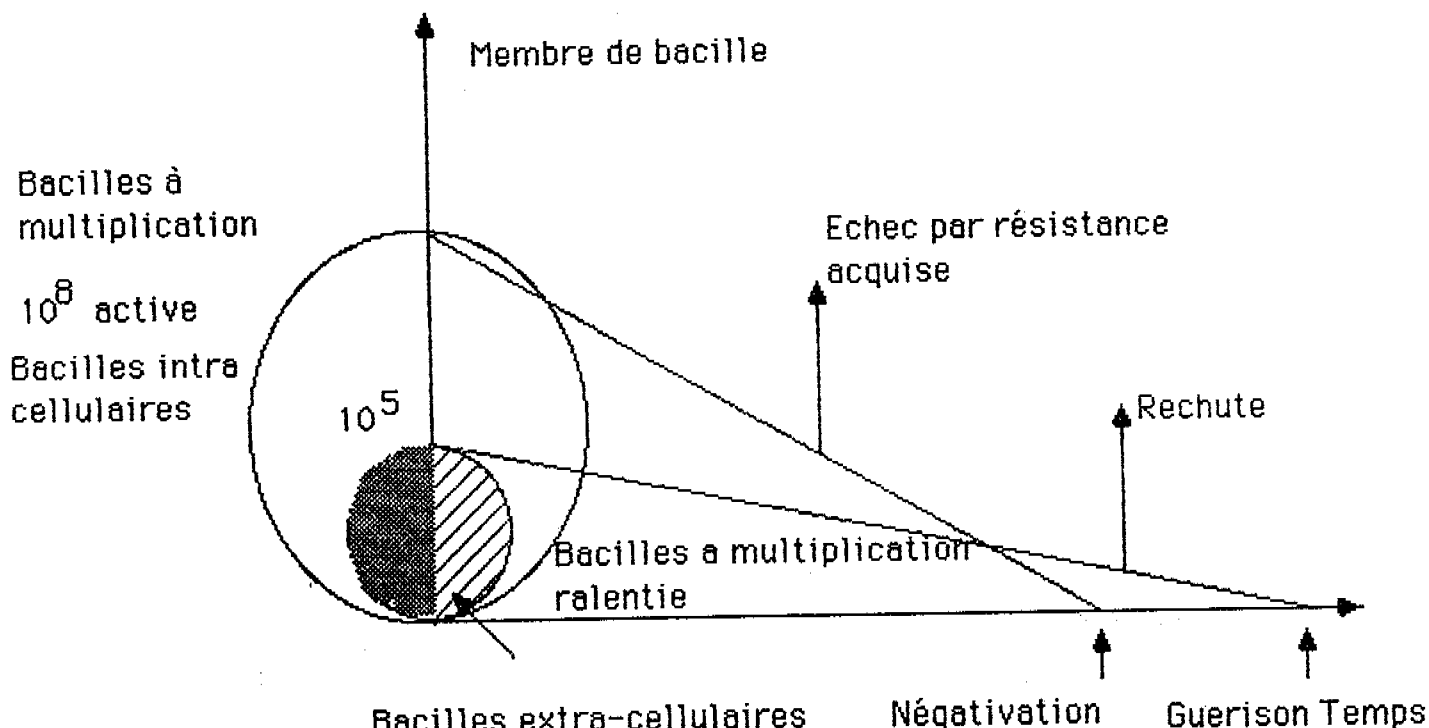
Ainsi les premiers à détruire sont ceux qui forment la population active dans les parois caséuses. En raison de sa richesse, cette population contient d'emblée des mutants résistants aux antibiotiques dont la sélection conduirait à l'échec thérapeutique par résistance acquise. On atteint cet objectif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

Donc on doit chercher à négativer le plus tôt possible l'expectoration des malades. On y parvient en administrant non seulement plusieurs antibiotiques, mais les antibiotiques les plus bactéricides sur les bacilles à multiplication active.

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

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

SCHEMA III Illustration du traitement de la tuberculose.



III) LA RESISTANCE DU BACILLE TUBERCULEUX ET SES CONSEQUENCES : (43)

Comme les autres bactéries, le bacille tuberculeux est capable d'acquérir une résistance aux différentes drogues antituberculeuses. Ces phénomènes sont fondamentaux pour la conduite du traitement (16).

1°) La Résistance du Bacille Tuberculeux : Cette résistance est actuellement considérée comme de nature chromosomique. Aucune résistance plasmique n'a jusqu'ici été démontrée ou suspectée.

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

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

1 P. 10^5 bacilles pour l'INH

1 P. 10^5 bacilles pour la SM

1 P. 10^6 bacilles pour l'EMB

1 P. 10^3 bacilles pour l'Eth

1 P. 10^8 bacilles pour la RiF.

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

- Les cavernes évolutives sont très riches en bacilles. Une caverne de 2mm peut en contenir 10^7 à 10^9 .
- Un foyer caséux ouvert dans les bronches, moins bien oxygéné contient environ 10^4 à 10^6 .
- Les nodules et autres foyers caséux fermés sont au contraire pauvres en bacilles : 0 à $\frac{3}{10}$.

Une caverne de 2mm de diamètre due à une souche normale peut contenir d'emblée :

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

10^2 à 10^4 bacilles résistants à la SM

10^4 à 10^6 bacilles résistants à l'Eth

10 à $\frac{3}{10}$ bacilles résistants à l'EMB

0 à 10 bacilles résistants à la RiF.

D'où l'explication du grand risque de sélection de mutants résistants en cas de traitement insuffisant ou mal adapté.

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

2°) Prévention de la Résistance : L'émergence des souches résistantes étant la conséquence directe de la sélection par les antibiotiques des mutants présents dans les populations bacillaires, certaines règles sont à respecter scrupuleusement dans la prescription de ces drogues :

- Eviter la monothérapie. En effet, compte tenu de ce qu'on vient de voir ci-dessus, une monothérapie sera suivie inéluctablement de la sélection d'une souche résistante dans une lésion riche en bacilles. Par contre, la prescription de deux antibiotiques réduit considérablement cette possibilité si du moins la souche infestante est normale. Exemple : dans les souches normales, la proportion de mutants résistants à l'INH et la SM. pour chaque antibiotique est 10^{-5} . La proportion de mutants résistants à ces deux antibiotiques est donc 10^{-10}

en raison de l'indépendance des mutations ; dans une caverne contenant 10^7 à

⁹ bacilles, il est donc peu probable qu'il existe un mutant double.
10

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

- Pratiquer des tests de sensibilité in vitro et dans leur attente de prescrire de préférence trois antibiotiques. Pour les antibiotiques mineurs dont le taux de mutation est plus élevé, il est impératif d'administrer même vis à vis d'une souche normale, trois antibiotiques simultanément pour éviter la sélection.

D'où deux règles fondamentales :

* Nécessité de l'antibiogramme

* Nécessité aussi de prescrire une association médicamenteuse comportant au moins deux antibiotiques majeurs et plutôt trois au début du traitement.

IV) LES DIFFERENTES DROGUES ANTITUBERCULEUSES (33)

En 1975 l'Union Internationale de Lutte contre la Tuberculose (U.I.C.T.) et l'Organisation pour la Coopération et la Coordination contre les Grandes Endémies, ont cités douze médicaments antituberculeux qui étaient utilisés à travers tout le monde. Il s'agissait de : l'éthambutol, l'isoniazide, la rifampicine, la streptomycine, la kanamycine, l'acide para-amino salicylique, la viomycine, la cycloserine, le pyrazinamide, la capréomycine, le thiosemicarbazone et l'éthionamide.

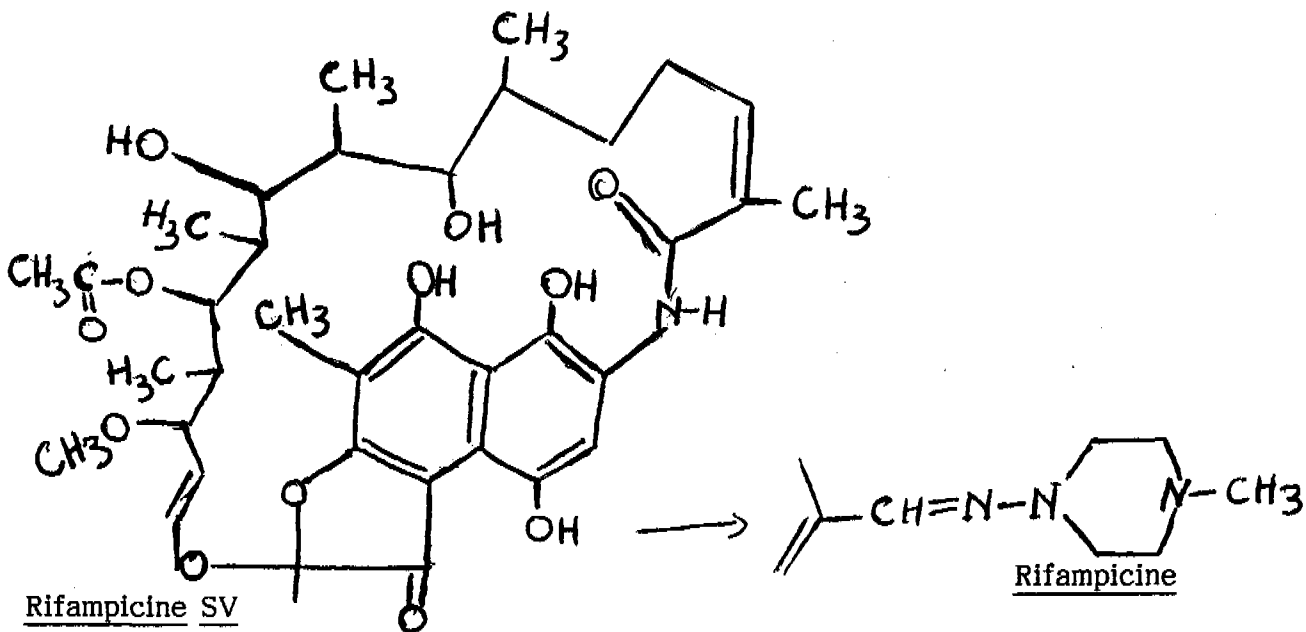
Mais c'est en 1982 à la conférence de Buenos Aires que six médicaments ont été retenus comme médicaments essentiels de la tuberculose. Il s'agit de : l'Isoniazide, la Rifampicine, l'Ethambutol, la Streptomycine, la Thiosemicarbozone et le Pyrazinamide.

1) LA RIFAMPICINE :

La rifampicine est un dérivé de la rifampicine SV qui provient de la réduction de la rifampicine S, issue de la transformation en solution aqueuse aérée de la

rifampicine B, substance produite par streptomyces mediterranei.

Structure Chimique :



Activité : la rifampicine est le plus actif des antituberculeux. Elle a un pouvoir bactéricide sur les trois populations bacillaires qui existent dans les lésions tuberculeuses. La proportion de mutants résistants est très faible.

Pharmacocinétique :

- Diffusion tissulaire et intracellulaire, bonne
- Taux sérique après 600mg per os 10 à 20 Mcg/ml
- Demi vie variant de 1H30 à 5H.
- Liaison protéinique 75 à 85 %.
- Coefficient de dépassement moyen (CDm = 74).

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

CMI = Coefficient Minima Inhibitrice

CMI de l'ordre de 0,1Mcg/ml.

- Elimination hépatique
- Traverse mal la barrière hémato-méningée.

POSOLOGIE, VOIE D'ADMINISTRATION, SPECIALITES

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

- Voie d'administration :

Voie orale ou intraveineuse (en perfusion de 1h30) à la dose quotidienne de 600 mg chez l'adulte et 10 à 15mg chez l'enfant.

Spécialités : Rifadine* , Rimactan* , Rifinah*.

Toxicité :

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

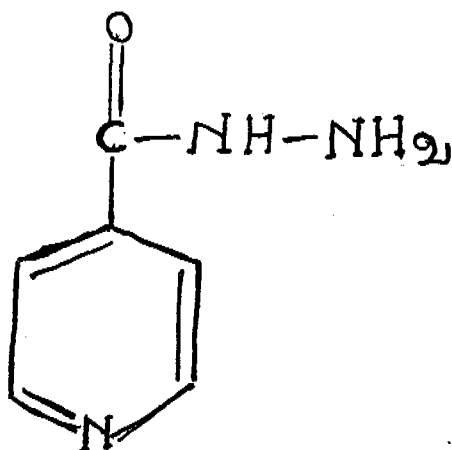
-Ictère en association avec l'INH par induction enzymatique entraîne une formation de métabolites instables de l'INH cause de l'ictère. D'où l'arrêt de l'INH et non la Rifampicine en cas d'ictère.

- Insuffisance rénale aigue, purpura thrombopenique, anémie hémolytique d'origine immuno-allergique, interaction avec les hormones.

2) L'ISONIAZIDE :

C'est l'hydrazide de l'acide isonicotinique (INH) décrit en 1912 par Meyer et Nally. Propriétés antituberculeuses connues en 1952, donc 40 ans plus tard.

Structure :



Activité : Pouvoir bactéricide sur le bacille tuberculeux. Il a une action spécifique : actif sur les formes à multiplication active et sur les formes intracellulaires. Mais pas d'action sur les formes cavitaires à multiplication lente.

La proportion des mutants résistants est de 10^{-5} . La CMI est de 0,04 à 0,05Mcg/ml

PHARMACOCINETIQUE :

Excellente diffusion tissulaire et dans les macrophages. Traverse les meninges.

Taux sérique après 200mg per os 1,6Mcg/ml à la troisième heure et 0,7 à la sixième heure, CDM = 25 à 75.

L'isoniazide est métabolisée au niveau des hépatocytes qui le transforme en acetyl isoniazide inactif mais très toxique pour le foie. Cette dégradation se fait plus ou moins rapidement chez les sujets. Ce qui ralentit sur le taux sérique. On définit ainsi l'indice d'inactivation :

$$I_3 = \frac{C_3 + 0,6}{D} \text{ où } C_3 = \text{Concentration sérique en INH inactif exprimée en mcg/ml}$$

et mesurée 3 heures précises après la prise buccale du médicament. D = dose d'isoniazide buccale exprimée en mg/Kg.

On distingue ainsi :

I_3 0,40 inactivateur rapide

I_3 0,65 inactivateur lent

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

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

POSOLOGIE, VOIES D'ADMINISTRATION ET SPECIALITES :

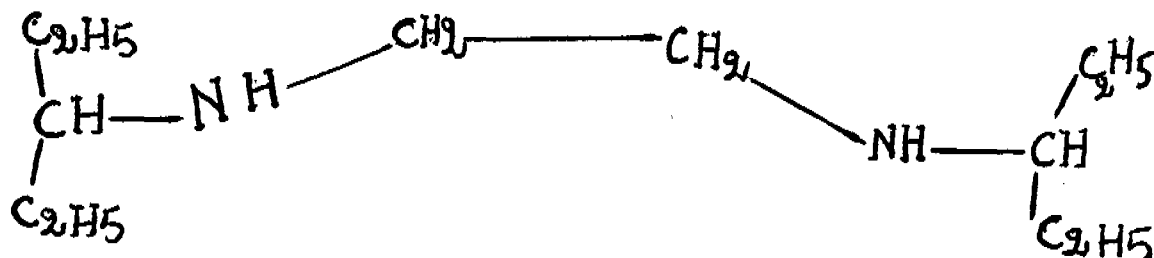
L'isoniazide (Hexoniazide* , Rimifon* , Isobenzacyl*) s'administre habituellement par voie orale à la dose quotidienne de 5mg/kg chez l'adulte, 10mg/kg chez l'enfant et le nourrisson.

Toxicité : L'isoniazide est le moins toxique des antituberculeux, cependant divers types d'accidents ont été signalés :

- Polynévrite par hypovitaminose B₆
- Algo-dystrophie des épaules
- Accidents neuro-psychiques très rares
- Gastrite, atteinte hépatique.

3) L'ETHAMBUTOL

Structure chimique : Ce produit est l'isomère dextrogyre du 2,2-(Ethylène diamino) di 1-butanol.



Activité : Il est bactériostatique et inhibe les bacilles tuberculeux à la concentration de 1 à 2mcg/ml.

Le taux de mutation est relativement faible 10^{-6} ; Il est actif sur les formes à multiplication active et intracellulaire.

PHARMACOCINETIQUE :

Bonne diffusion tissulaire, le pic sérique atteint 4 à 5mcg/ml. CDM = 4,7; ; la demi vie est de 6 à 8 heures chez le sujet normal ; la fixation protéique est négligeable élimination totale réno-urinaire.

POSOLOGIE, VOIES D'ADMINISTRATION ET SPECIALITES :

L'Ethambutol (Dexambutol , Myambutal) est habituellement utilisé par voie orale à raison de 25mg/Kg pendant les deux premiers mois du traitement, puis 15mg/Kg.

On peut ainsi employer par voie intramusculaire ou intraveineuse à la même posologie. En cas d'insuffisance rénale majeure, on administre cette dose toutes les 48 heures.

Toxicité :

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

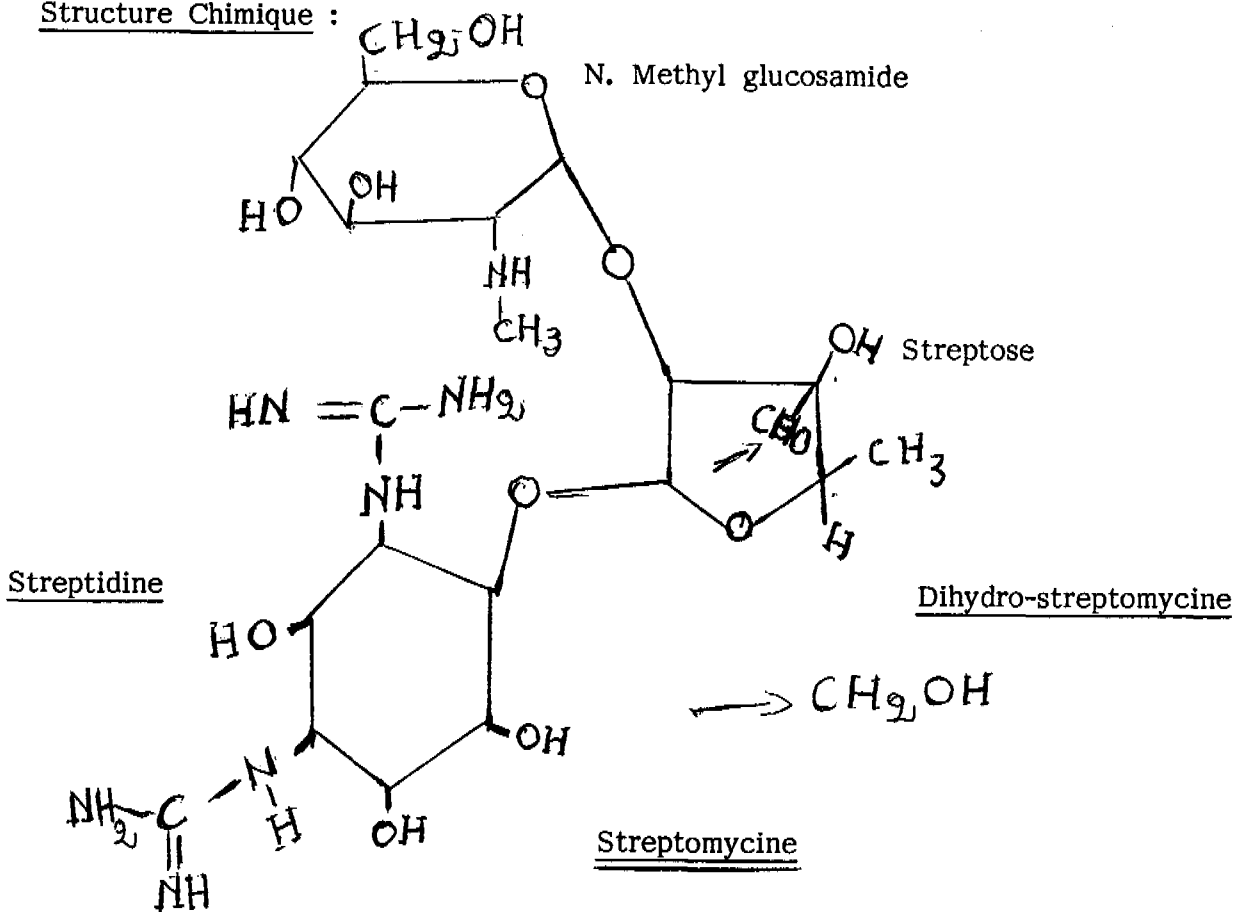
LA STREPTOMYCINE :

C'est le premier antibiotique du groupe des oligo-saccharides ou aminosides ou aminoglycosides. C'est en outre le premier des antituberculeux. Elle a été isolée en 1944 par Waksman et Coll de Streptomyces - Griseus.

Activité :

Elle a un pouvoir bactéricide sur les formes à multiplication active. Mais, elle est inactive sur les formes à multiplication lente et sur les formes intracellulaires. Son activité sur le bacille tuberculeux est dix fois plus faible que celle de l'isoniazide. Son taux de mutation atteint 10^{-5} .

Structure Chimique :



PHARMACOCINETIQUE :

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

Après injection de 0,50g par voie intramusculaire, le taux sérique atteint 20mcg/ml ; CDM = 38.

Le passage intrarachidien est très faible. La liaison protéique est de 20 à 30 %. L'élimination est urinaire. (Filtration glomérulaire) sous forme active.

POSOLOGIE, VOIE D'ADMINISTRATION, SPECIALITES :

La posologie est de 1g/jour chez l'adulte et 25 à 50mg/kg chez l'enfant.

Toxicité :

Accidents allergiques, accidents toxiques vrais (atteinte labyrinthique et auditive, convulsion), atteinte de la 8^e paire de nerf crânien.)

LE PYRAZINAMIDE :

Utilisé sous forme de pyrazinamide pur (Piraldine^{*}) à la dose de 2g/jour ou sous forme de N-morpholino méthyl-pyrazinamide ou morphozinamide (Piazoline^{*}) à la dose de 3g/jour. Il est toujours utilisé en association avec un antituberculeux majeur.

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

6 - LES THIOSEMICARBAZONES :

Le composé le plus actif est le thioacétazone ou Tbl. Son activité sur le bacille tuberculeux est voisine de celle de l'acide para amino salicylique.

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

La posologie est 50 mg à 150 mg par jour chez l'adulte et 5 à 15 mg chez l'enfant.

La voie d'administration est la voie buccale.

V LES SCHEMAS THERAPEUTIQUES AU MALI (15):

Au Mali, trois régimes sont utilisés pour le traitement de la tuberculose :

- Un régime court pour le traitement des nouveaux malades à frottis positif à l'examen direct au microscope, et qui dure 8 mois
- Un régime court pour le traitement des anciens malades déjà traités pendant 12 mois et qui restent positifs. Sa durée est de 6 mois
- Un régime long appelé régime standard qui dure 12 mois. Il est appliqué aux nouveaux malades et est composé de médicaments à prix de revient bas, mais efficace.

1°) Le Régime court du traitement des nouveaux malades :

Ce régime est destiné aux seuls malades tuberculeux pulmonaires nouvellement dépistés : malades positifs à l'examen direct au microscope et encore jamais traités.

Pour ce régime sont exclus :

- * Les nouveaux malades dépistés par l'examen radiologique seul quel que soit l'aspect des lésions qu'ils présentent
- * Les cas pour lesquels subsiste un doute quant à la possibilité d'un traitement antérieur.

Ce régime utilise cinq médicaments au total :

- Pendant les deux premiers mois, quatre médicaments sont utilisés quotidiennement
- Pendant les six mois suivants, deux médicaments sont administrés de façon quotidienne également.

Ce régime se résume de la façon suivante :

2 H R S Z / 6 T H

- H = Isoniazide)
R = Rifampicine) Associés en un seul comprimé sous le nom
de Rifinah* ou Rimactazid*
1 comprimé = | R = 150mg
| H = 100mg.
- S = Stréptomycine
Z = Pyrazinamide
T = Thioacétazone) Associé à l'isoniazide sous le nom de
Diatébène* ou Thiazina*
1 comprimé = | H = 300mg
| T = 150mg

Schémas Thérapeutiques

Les doses usuelles varient en fonction du poids du malade.

a) Malades Pesant plus de 50Kgs

Deux premiers mois tous les jours	Six mois suivants tous les jours
Rifinah = 4 comp	
Pyrazinamide = 4 comp.	Diatébène = 1 comp.
Streptomycine = 1gr	

b) Malades pesant entre 33kgs à 50kgs

† Deux premiers mois tous les jours	Six mois suivants tous les jours
Rifinah = 3 comp. Pyrazinamide = 3 comp. Streptomycine = 1 gr	Diatébène = 1 comp.

c) Malades pesant moins de 33kgs

Deux premiers mois tous les jours	Six mois suivants tous les jours
† Rifinah = 2 comp. Pyrazinamide = 2 comp. Streptomycine = 1 gr	† Diatébène = 1 comp.

NB :

- La phase intensive de traitement avec quatre médicaments peut-être prolongée si la négativation des expectorations n'est pas obtenue au bout de 2 mois sans modification de la durée de la phase d'entretien durant six mois
- Les patients qui ne supporteront pas le diatébène, continueront la phase d'entretien avec le Rifanah
- Les patients demeurant positifs à la fin du 8e mois suivront le régime de retraitement.

2°) Le régime de retraitement(six mois) (16)

Ce régime est destiné aux seuls malades qui doivent subir un second traitement (retraitement). C'est à dire :

- Les réchutes : Malades guéris ayant arrêté tout traitement et qui doivent être à nouveau traités parce qu'ils sont redevenus positifs
- Les échecs du traitement standard : malades demeurés positifs après douze mois de traitement au régime standard
- Les malades demeurés positifs après un premier traitement au régime court.

Schémas Thérapeutiques : $\bar{\vee}$

Pendant les trois premiers mois, 4 médicaments sont utilisés quotidiennement, plus la streptomycine 3 fois par semaine.

Pendant les trois autres mois, trois médicaments sont utilisés de façon intermittente (3 fois par semaine).

Ce régime se résume comme suit :

3 H.R.E.Z. S₃ / 3 H₃R₃E₃

E = Ethambutol = Myambutol*
S = Streptomycine
H = Isoniazide.

Z = Pyrazinamide
R = Rifampicine

a) Malades pesant plus de 50 Kgs

3 premiers mois tous les jours		3 derniers mois 3 fois par semaine	
Rifinah	= 4 comp.	Rifinah	= 4 comp.
Pyrazinamide	= 4 comp.	Ethambutol	= 5 comp.
Ethambutol	= 3 comp.		
Streptomycine	= 1g (3/7)		

b) Malades pesant entre 33kgs à 50 Kgs

3 premiers mois tous les jours	3 derniers mois 3 fois par semaine
Rifinah = 3 comp.	Rifinah = 3 comp.
Pyrazinamide = 3 comp.	
Ethambutol = 2 comp.	Ethambutol = 4 comp.
Streptomycine = 1g (3/7)	

c) Malades pesant moins de 33kgs

3 premiers mois tous les jours	3 derniers mois trois fois par semaine
Rifinah = 2 comp.	Rifinah = 2 comp.
Pyrazinamide = 2 comp.	
Ethambutol = 2 comp.	Ethambutol = 3 comp.
Streptomycine = 0,5g (3/7)	

N.B : Sont exclus pour ce traitement :

Les malades positifs avant la fin des 12 mois de traitement

Les malades indisciplinés dans la prise de leurs médicaments ou malades chroniques.

Ce traitement en aucun cas n'excèdera six mois et les malades positifs à la fin du sixième mois de traitement continueront à recevoir de l'isoniazide seul à la dose de 300mg/jour.

3°) Le Régime Standard : (15)

Ce régime s'étend sur 12 mois et emploie 3 antibiotiques. Il comporte deux phases :

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

Schemas Therapeutiques : IV

Phase initiale 2 mois tous les jours	Phase d'entretien 10 mois tous les jours
Diatelbene 1 comp. Streptomycine 1gr	Diatelbene 1 comp.

N.B : En cas d'allergie au thiacétazone, la phase d'entretien sera poursuivie avec de l'isoniazide ^{et ST} qui sera administrés 3 fois/semaine.

Actuellement, la tendance est de mettre tous les nouveaux dépistés sous le régime court de 8 mois.

on ne peut douter de l'efficacité de ces trois régimes. Cependant, il serait préférable et dans le souci d'utiliser les antibiotiques à bon escient, qu'ils soient basés sur le résultat de l'antibiogramme réalisé sur les différentes souches isolées chez les malades. Ce qui réduirait les échecs de traitement et les rechutes.

**VI. EXAMENS BACTERIOLOGIQUES A
PRATIQUER AU COURS DE LA
TUBERCULOSE PULMONAIRE**

Les examens à pratiquer dans un cas de tuberculose pulmonaire sont différents selon que l'on est au début, en cours ou en fin de traitement.

I - EXAMENS A PRATIQUER AU DEBUT DE LA MALADIE (10)

Deux examens sont essentiels : la recherche du bacille tuberculeux dans les crachats et le test de sensibilité aux antibiotiques.

1°) Recherche du Bacille :

Etant donné la complexité des pathologies pulmonaires et des connaissances qu'on a d'elles aujourd'hui, ce serait une véritable faute professionnelle, d'admettre un diagnostic de tuberculose pulmonaire sans preuve bactériologique. Car il entraîne très souvent pour le malade une sanction thérapeutique prolongée et lourde.

La recherche du bacille se fait par l'examen microscopique de 3 prélèvements successifs à 24 heures d'intervalles, et si possible par la mise en culture d'un des prélèvements au moins. Car la culture donne 20 % de chance de positivité de plus que la microscopie directe. Toutes ces opérations doivent être effectuées dans la mesure du possible avant la mise en route de tout traitement antibiotique.

A noter que : un premier examen microscopique positif ne dispense pas des deux autres examens suivants, avec mise en culture, en raison d'une possible contamination de la première culture ou de toute autre cause d'échec.

Si les trois examens microscopiques sont négatifs, il est vivement recommandé de procéder à la recherche d'une autre étiologie à la maladie, notamment on doit procéder à la recherche des germes banaux. C'est à dire les autres bactéries pouvant être responsables de pathologies respiratoires. Exemple : pneumocoque,

Klebsiella pneumoniae... Même si l'on ne peut retarder la mise en route du traitement, l'isolement du bacille tuberculeux au début du traitement est en effet d'une importance primordiale pour la confirmation du diagnostic de tuberculose et pour pouvoir procéder à l'examen capital qu'est l'antibiogramme.

2°) Antibiogramme :

Le test de résistance est un examen fondamental. De lui dépendra le traitement et, de ce fait, l'évolution ultérieure de la maladie.

Deux cas sont à envisager, selon que le malade n'a jamais été traité ou, au contraire, a déjà été traité antérieurement.

2-1 Malade Dépisté :

Le but du titrage est de rechercher si le malade n'a pas été contaminé par une souche d'emblée résistante (résistance primaire). Cette éventualité sans être exceptionnelle n'est pas fréquente. Au Mali 18,18 % des souches isolées chez les malades non encore traités sont résistants à l'isoniazide et à la streptomycine (selon la thèse de Samba SANGARE en 1982). La résistance aux autres antibiotiques est exceptionnelle.

Le test de sensibilité aux drogues pourra être fait :

- Par la méthode directe, si le frottis du crachat montre plus d'un B.A.A.R. par champ microscopique
- Par la méthode indirecte, à partir de la primoculture dans le cas contraire (moins d'un B.A.A.R. par champ).

Les quatre antibiotiques les plus fréquemment utilisés sont seulement testés (INH, SM, Rif, EMB). C'est la série de test dite limitée.

Si le test aux quatre antibiotiques habituels décèle une souche résistante, il est conseillé de refaire un test explorant tous les antibiotiques, afin de disposer de tous les renseignements nécessaires à un bon traitement. C'est la série de test dite complète.

2-2 Malade Ancien :

Dans ce cas le malade est le plus souvent porteur d'une souche de bacilles résistants à un ou plusieurs antibiotiques, notamment les plus utilisés. Le test de sensibilité sera fait fait donc :

- Rapidement par la méthode directe, si le nombre de bacilles vus par champ microscopique l'autorise.
- A tous les antibiotiques disponibles ou tout au moins à tous les antibiotiques que le malade a reçus au cours de son traitement.

N.B : Si les prélèvements sont négatifs à l'examen direct, il est tout de même important de les mettre en culture pour pouvoir isoler la souche. Mais en aucun cas la mise en route du traitement ne doit attendre les résultats de la culture.

II - EXAMENS A PRATIQUER AU COURS DU TRAITEMENT :

Au cours du traitement, les examens bactériologiques ont un double but :

Contrôler l'efficacité du traitement d'une part et d'autre part rectifier éventuellement un traitement inefficace.

1°) Contrôle des Crachats :

La recherche des B.A.A.R. dans les crachats ou dans le liquide de tubage gastrique doit être faite tous les mois jusqu'à la fin du traitement : c'est la manière de faire idéale. Mais si la négativation des crachats s'est produite dès les 1er 2e ou 3e mois (comme c'est le cas dans la plupart des traitements efficaces), on pourra remplacer les examens mensuels par un seul contrôle tous les 6 mois.

Pour un traitement efficace, les examens microscopiques directs successifs doivent montrer la raréfaction progressive des bacilles, puis leur disparition définitive.

Inversement, la persistance prolongée des bacilles dans les crachats au delà du troisième mois, et surtout au delà du sixième mois de traitement est un signe d'inefficacité du traitement appliqué, particulièrement lorsqu'une augmentation nette du nombre de bacilles fait suite à une raréfaction.

Toutefois la persistance des bacilles peut être due à un mauvais comportement du malade, quand ce dernier prend irrégulièrement ses drogues ou ne les prend pas du tout. Alors on doit faire une enquête auprès du malade ou de son entourage.

2°) Culture :

Elle ne devient nécessaire que dans certains cas ci après :

- * Le malade ayant reçu son traitement sans que l'antibiogramme initial soit fait, dans ce cas, il convient de faire la culture en vue d'un antibiogramme éventuel en cas de persistance de B.A.A.R. dans les crachats à la microscopie directe, au delà du 6e mois.
- * Ou bien si à une négativation plus ou moins prolongée des crachats, fait suite une réapparition des bacilles à l'examen microscopie direct en vue d'un test de sensibilité.

3°) Test de Sensibilité :

Il n'est pas toujours nécessaire sauf dans certains cas où il est formellement conseillé :

- Lorsque le traitement a commencé, sans que la sensibilité de la souche infectante soit testée aux drogues
- Il sera aussi indiqué si à une négativation ou à une raréfaction des bacilles dans le crachat fait suite une nouvelle flambée bacillaire.

Le test sera fait seulement aux principales drogues (INH, SM, Rif, et EMB) si c'est le premier traitement. Et on procédera à une série de tests complets si c'est un ancien malade.

Mais dans tous les cas, un test de sensibilité s'impose, si après le 6e mois de traitement correct les examens microscopiques directs restent positifs.

III - EXAMENS A PRATIQUER EN FIN DE TRAITEMENT : (10)

En fin de traitement, une surveillance bactériologique est nécessaire. L'arrêt du traitement est un moment capital. Il faut s'assurer alors avec une rigueur toute particulière que la maladie est bactériologiquement guérie. En effet, il faut une négativation continue des crachats avec disparition des symptômes évocateurs de la maladie donc retour au bien être du malade.

Aussi une recherche du bacille dans les crachats par examen microscopique direct et la mise en culture des crachats sont nécessaires devant tout cas d'altération de l'état général (asthénie, amaigrissement, anorexie...) ou tout cas de toux persistante.

La positivité de l'un de ces examens ci-dessus cités doit faire systématiquement l'objet d'un test de résistance.

**VII- SUJETS ETUDIES
MATERIELS ET METHODES**

1°) Sujets Etudiés :

Nos travaux portent sur 150 anciens malades tous en traitement au moment de la collecte de leurs expectorations.

- Parmi les 150 malades 90 viennent du Dispensaire Anti-tuberculeux et 60 du service de phtisiologie de l'hôpital National du Point G.

PROVENANCE	NOMBRE	POURCENTAGE
D.A.T.	90	60
H.Pt.G.	60	40
TOTAL	150	100

- Sur les 150 malades 90 avaient été soumis au régime de traitement standard, après le dépistage et 58 au régime de traitement court.

Nous ignorions le régime de départ de deux patients : puisque l'un a suivi son premier traitement en Côte d'Ivoire et nous n'avons aucun renseignement sur son dossier, le second a débuté son traitement en France.

.../...

REGIMES APRES LE DEPISTAGE	NOMBRE	POURCENTAGE
Standard	90	60
Court	58	38,7
Inconnus	2	1,3
TOTAL	150	100

Au moment de la collecte des échantillons :

- . 96 soit 64 % des 150 patients étaient en retraitement, car leurs crachats n'avaient pas été négativés au cours du premier traitement
- . 18 soit 12 % des malades étaient en retraitement pour rechute
- . Et 36 restants soit 24 % étaient en suivi de traitement.

D'autre part, les 150 malades étaient tous positifs à la bacilloscopie.

NATURE DU MALADE	NOMBRE	POURCENTAGE
Non Négativés	96	64
Rechute	18	12
En suivi	36	24
TOTAL	150	100

2°) Matériels :

Dans la période allant du 24 Février au 22 Novembre 1989, nous avons collecté chez 150 malades atteints de tuberculose pulmonaire des expectorations contenant des bacilles acido-alcool-résistants (B.A.A.R.) visibles à l'examen direct au D.A.T. de Bamako et au service de bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique.

3°) Méthodes :

3-1 Procédure Générale : Au D.A.T. de Bamako, comme à l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P.), un frottis est fait sur les crachats des malades qui subissent le traitement.

Les crachats positifs à la bacilloscopie sont immédiatement décontaminés, par la soude à 4 %. Le culot de centrifugation après neutralisation par l'acide sulfurique à 4 % en présence d'un indicateur de PH estensemencé en totalité sur trois tubes de milieux Loewentein-Jensen : un tube de milieu glycérimé plus pyruvate, un tube de milieu glycérimé sans pyruvate et un tube de milieu sans glycérimé plus pyruvate.

Les tubes sont placés à l'étuve à 37°C, munis chacun d'une étiquette portant le nom, le prénom et la date d'ensemencement du crachat du malade. Tous les tubes sont contrôlés chaque jour pendant une semaine, pour déceler les poussées rapides et les contaminations. Puis, on les contrôle une fois par semaine.

Et sur chaque tube qui pousse, on note la date d'apparition des premières colonies.

Les souches isolées ont été identifiées et testées aux différentes drogues antibacillaires disponibles au laboratoire de l'I.N.R.S.P. .

3-2 Techniques :

3-2-1 Examens microscopiques :

A l'I.N.R.S.P. et au D.A.T. un frottis est fait sur chaque échantillon de crachat du jour, les frottis sont laissés séchés à l'air libre, puis ils sont fixés

par la chaleur et l'alcool. Ils sont ensuite colorés par la méthode de Ziehl-Neelson à froid. Les frottis sont ensuite examinés au microscope à l'objectif X 100 à l'aide de la lumière d'une ampoule électrique transmise par cette coloration.

3-2-2 Culture :

Les crachats étaient mis en culture après traitement (homogénéisation et décontamination); par la soude à 4 % et centrifugation (à raison de 3.000 tours à la minute). Le culot de centrifugation avant d'êtreensemencé en totalité était toujours neutralisé par l'acide sulfurique (à 4 %) en présence d'un indicateur coloré.

La culture est faite sur trois tubes de milieux : à savoir un tube de milieu Loewenstein-Jensen glycérimé plus pyruvate, un tube de milieu Loewenstein-Jensen glycérimé sans pyruvate et un tube Loewenstein-Jensen sans glycérimé plus pyruvate.

Les tubesensemencés sont mis à l'étuve à 37°C, on les incline légèrement pour que le liquide d'ensemencement couvre tout le milieu.

Les tubes sont laissés légèrement dévissés, pendant trois à quatre jours afin que le liquide d'ensemencement s'évapore ; puis ils sont hermétiquement fermés.

Les tubes sont contrôlés tous les jours pendant la première semaine pour décélérer les poussées rapides, puis ils sont contrôlés une fois par semaine jusqu'à la poussée des premières colonies qui normalement apparaissent au plus tard dans trois mois. A chaque contrôle, on écarte les tubes contaminés et on note la date d'apparition des nouvelles poussées s'il y en a.

Mais si la contamination survient après la poussée des colonies, on procède à un répiquage de la souche de nouveau sur trois tubes de Loewenstein-Jensen comme précédemment décrit, après une nouvelle opération de décontamination et de neutralisation.

3-2-3- Identification Biochimique :

Pour identifier les souches isolées, nous avons utilisé trois tests biochimiques :

- La recherche de la catalase à 22°C et après chauffage à 70°C pendant 15 minutes sur les jeunes colonies de la primo-culture
- La recherche de la nitrate réductase par la technique de Virtanen sur les jeunes colonies de la primo-culture
- La recherche de la Niacine, par la méthode des bandelettes réactives, sur les colonies de la primo-culture vieilles d'au moins un mois.

3-2-4 Antibiogramme :

Pour mesurer la sensibilité des souches isolées aux différentes drogues antibacillaires, nous avons utilisé la méthode des proportions : celle décrite par Canetti-Rist et Grosset (10), et le milieu de Loewenstein-Jensen avec antibiotique incorporé avant la coagulation.

Ces milieux ont été préparés par nous même dans le service de bactériologie de l'I.N.R.S.P. sous le contrôle du Professeur Bréhima KOUMARE, Chef du dit service.

C'est ainsi que les différentes souches après isolement et identification, ont été testées : à l'isoniazide (0,2mcg/ml) à la streptomycine (40mcg/ml), au P.A.S. (0,5mcg/ml) à l'éthambutol (2mcg/ml), au thiacetazone (2mcg/ml) et au T.C.H. (2mcg/ml).

Conformément à cette méthode une suspension bacillaire en eau distillée stérile est préparée à partir de la primo-culture ou d'un des tubes témoins (si c'est une reprise du test). L'opacité de la suspension est ajustée à celle d'un étalon B.C.G. (fourni par l'Institut Pasteur de Paris).

A partir de cette première suspension, on prépare trois autres suspensions (10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5}) pour chaque souche.

Chacune des suspensions (10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5}) est ensemencée sur deux tubes témoins et sur un tube de chaque antibiotique à raison de 0,2ml/tube.

Les deux tubes témoins comprennent un tube de Loewenstein-Jensen ordinaire et un tube Loewenstein-Jensen plus pyruvate.

Le P.A.S. qui n'est pas utilisé en thérapeutique joue pourtant un rôle dans l'identification des souches mycobactériennes selon leur sensibilité vis-à-vis de lui.

Le T.C.H. n'est pas un antibiotique antituberculeux à proprement parlé. Il est utilisé dans les tests pour des raisons d'identification des souches.

L'absence du pyrazinamide se justifie par le fait que ce dernier ne se prête pas aisément aux tests de sensibilité. Il n'agit qu'en milieux acides, alors que nos milieux ont un PH neutre.

VIII. RESULTATS

Du 24 Février au 22 Novembre 1989, nous avons collecté 150 expectorations venant toutes d'anciens malades dont 114 en retraitement et 36 en cours de traitement. (soit au D.A.T. de Bamako ou à la Phtisiologie de l'hôpital National du Pt. G.).

Nous avons abouti aux résultats suivants :

1°) Examen Direct : avant et après homogénéisation et centrifugation, nous avons procédé à un examen direct. Tous les échantillons ont été positifs avec un nombre de croix allant de un à quatre.

2°) Répartition des Malades :

2-1 Répartition en fonction du sexe :

	MASCULIN	FEMININ	TOTAL
Nombre	120	30	150
Pourcentage	80	20	100

Parmi les anciens malades, il y a plus d'hommes que de femmes.

2-2 Répartition en Fonction de l'Age :

AGES	NOMBRE	POURCENTAGE
0 à 19 ans	0	0
20 à 29 ans	24	16
30 à 39 ans	42	28
40 à 49 ans	60	40
≥ 50 ans	24	16
TOTAL	150	100

Dans notre échantillonnage, il existe plus de patients de 40 à 49 ans, suivi des patients de 20 à 29 ans et ceux qui ont plus de 50 ans. Nous n'avons pas de malades dans la tranche d'âge de 0 à 19 ans.

2-3 Répartition en Fonction de la Résidence :

RESIDENCE	NOMBRE	POURCENTAGE
* District de BKO	27	18
Kayes	17	* 11,3
Koulikoro	15	10
Sikasso	22	14,7
Ségou	10	6,7
Mopti	50	33,3
Gao	4	2,7
Tombouctou	5	3,3
TOTAL	150	100

Dans notre échantillonnage, il y a plus de malades résidant à Mopti, ensuite vient le District de Bamako, puis Sikasso, Kayes et Koulikoro. Par contre il y a moins de malades venant de Gao et Tombouctou.

2-4 Répartition en Fonction de l'Ethnie

ETHNIES	NOMBRE	POURCENTAGE
Bambara	28	18,7
Peulh	38	25,3
Malinké	15	10
Soninké	15	10
Sonrhaï	9	6
Kassouké	2	1,3
Maure	15	10
Bobo	6	4
Somono	7	4,7
Minianka	8	5,3
Dogon	7	4,7
TOTAL	150	100

Parmi nos patients il y a plus de Peulhs et de Bambaras, suivis des Malinkés, Soninkés et Maure. Par contre il y a moins de Kassoukés.

.../...

3°) La Culture :

Elle a duré 9 mois : du 24 Février au 22 Novembre 1989.

Elle a abouti aux résultats suivants :

Sur les 150 expectorationsensemencées nous avons obtenu 55 soit 36,7 % de cultures positives, 9 cultures soit 6 % ont été contaminées avant la poussée, 86 soit 57,3 % n'ont pas poussé.

Ce pourcentage faible de cultures positives peut être dû : soit à des difficultés d'ordre technique, puisque la méthode de décontamination que nous avons utilisée semble être la plus brutale, c'est à dire celle qui diminue le plus la viabilité du bacille tuberculeux, Soit lié à l'expectoration qui pourrait contenir des bacilles morts ou des bacilles à viabilité atténuée qui s'adapteraient difficilement au milieu in vitro.

Ajoutons à ces facteurs la non stabilité de la température à l'intérieur des étuves suite aux coupures répétées du courant à l'institut. Le tableau suivant résume les résultats de la culture.

	Cultures positives	Cultures contaminées avant poussée	Cultures négatives	Total
Nombre	55	9	86	150
Pourcentage	36,7	6	57,3	100

4°) Identification :

Elle a toujours été effectuée avant les tests de sensibilité ; ce qui nous a permis d'identifier les 55 souches isolées. Nous avons eu :

- . 53 soit 96,4 % de Mycobacterium tuberculosis
- . 1 soit 1,8 % Mycobacterium africanum
- . 1 soit 1,8 % Mycobactérie Atypique du type Kansasil.

Le pourcentage faible de Mycobacterium africanum et le pourcentage nul de Mycobacterium bovis sont peut être dûs au fait que nous n'avons pas utilisé du tout le milieu de coletsos qui stimule le développement de ces deux espèces.

Le milieu de coletsos est d'un prix de revient élevé et l'entretien est plus difficile que celui de Loewenstein-Jensen, c'est pourquoi nous avons utilisé à la place du Coletsos le Loewenstein-Jensen plus pyruvate.

Le tableau suivant résume les résultats des tests d'identification

ESPECES	Nbre de SOUCHES	POURCENTAGE
M. tuberculosis	53	96,4
M. africanum	1	1,8
M. bovis	0	0
M. atypique	1	1,8
TOTAL	55	100

5°) Antibiogramme :

Nous l'avons toujours pratiqué après les tests d'identification.

C'est à la suite d'un incident que l'étuve qui gardait les souches identifiées a été menée jusqu'à 60°C, occasionnant ainsi la perte de 19 soit 34,5 % des 55 souches identifiées.

Au repiquage 11 soit 20 % des 55 souches identifiées n'ont pas poussé .

En somme , nous avons pu mener à bout les études bactériologiques de 25 souches sur les 55 cultures positives soit 45,4 %. C'est sur ces 25 souches que se porteront la suite de nos travaux.

Parmi ces 25 patients nous avons :

- 19 malades en phase de retraitement dont :

- * 16 n'ont jamais pu être négativés depuis le début du traitement.
- * 3 malades sont revenus pour une rechute après être déclarés guéris.
- * Et 6 étaient en suivi de traitement.

Nous avons obtenu les resultats suivants :

TABLEAU IV : Taux de resistance des 25 souches aux differents antibiotiques.

ANTIBIOTIQUES	SOUCHES		% R.
	SENSIBLES	RESISTANTES	
Isoniazide (INH) seul	0/25	1/25	4
Streptomycine (SM) seule	0/25	1/25	4
Rifampicine (RiF) seule	2/25	0	0
Ethambutol (EMB) seul	2/25	0	0
Thiacetazone (Tb1) seul	1/25	0	0
INH + SM	0/25	4/25	16
SM + Tb1	0/25	2/25	8
INH + SM + Tb1	0/25	4/25	16
INH + SM + RiF	0/25	1/25	4
INH + EMB + Tb1	0/25	1/25	4
INH + RiF + Tb1	0/25	3/25	12
INH + SM + RiF + Tb1	0/25	2/25	8
INH + SM + EMB + Tb1	0/25	2/25	8
INH + SM + RiF + EMB	0/25	1/25	4
SM + RiF + Tb1	0/25	1/25	4
INH + SM + RiF + EMB + Tb1	1/25	1/25	4
<hr/>			
Sensible à tous les antibiotiques	1/25		
<hr/>			
Résistant à au moins un anti- biotique		* 24/25 *	96 *

Dans le tableau IV on note que sur les 25 souches venant d'anciens malades, 24 sont résistantes à au moins un antibiotique, soit 96 % de résistance contre 37,21 % de résistance primaire trouvée dans une étude menée par A. BAH (4) pendant la même période.

Et parmi les 24 souches résistantes, il n'y a que deux monorésistances dont l'une à l'INH seul et l'autre à la SM seule. Mais il est intéressant de savoir que ces deux cas n'ont été rencontrés que chez des malades en suivi de traitement, de moins de trois mois. Toutes les 22 autres souches sont polyrésistantes.

Nous avons rencontré le taux de résistance le plus élevé aux associations INH + SM et INH + SM + Tb1 (16 %) chacune suivie de l'association INH + RiF + Tb1 (12 %).

D'autre part, sur les 22 souches polyrésistantes 15/22 soit 68,18 % incluent l'INH et la SM dans leur phénotype de résistance et 22,73 % englobent l'INH, le SM et la rifampicine dans leur phénotype de résistance.

6°) ETUDE SEPARÉE DES TROIS GROUPES DE MALADES

Notre échantillon contient trois groupes de malades :

- * 16 malades en retraitement pour n'avoir pas été négativés durant leur premier traitement
- * 3 malades en retraitement pour rechute
- * 6 malades en suivi de traitement.

6-1 Malades en Retraitement pour non Stérilisation

a- Rappel du Régime de retraitement

Le régime de retraitement est un régime qui dure six mois. Il se résume de la manière suivante :

Z H R E Z S₃ / Z H R E

où H = Isoniazide - R = Rifampicine - E = Ethambutol - Z = Pyrazinamide et
S = Streptomycine.

b- Situations des malades

Ils sont au nombre de 16 dont :

- 9 malades avaient été traités par le régime standard de 12 mois sans succès.

Parmi eux :

- * 4 sont actuellement à leur 3ème mois de retraitement
- * 3 sont à leur 2e mois de retraitement
- * 2 sont à leur 1er mois de retraitement.

- 5 malades avaient été traités par le régime de traitement court.

Parmi eux :

- * 1 est à son 6ème mois de retraitement
- * 1 est à son 3ème mois de retraitement
- * 3 sont à leur 2ème mois de retraitement.

-Nous ignorons le régime de départ des deux autres malades, l'un ayant commencé son traitement en France et l'autre en Côte d'Ivoire.

Celui de la France est pris à son 1er mois de retraitement, et celui de la Côte-d'Ivoire à son troisième mois de retraitement. Aucun des 16 malades n'a bénéficié d'un antibiogramme avant le début du traitement.

Nos travaux sur le contrôle de sensibilité des 16 souches aux différentes drogues antibacillaires ont donné les résultats suivants :

.../...

TABLEAU V Résultats de l'antibiogramme :

Noms et Prenoms	Sexe et âge	Régime de 1er traitement	Stade de re- traitement	Résultats de la bacilloscopie	Test d'identi- fication	Résultats du test de sensi- bilité.	Phénotypes de résis- tance	Observ
S. OUL	H ⁺ 42	R.C	6é mois	+++	M. tub	S. R. S. S. S. S. R. S.	S.T. H.S.R.	irré D
D. DEMBA	F ⁺ 50	R.C.	3é mois	++	"	R. R. R. R. S. S. S.	H.S.R.	régulé
F. TRAORE	H ⁺ 60	"	2é	+	"	R. R. R. S. R. R. R.	H.S.E.T.	"
K. TOURE	F ⁺ 43	"	2é	+	"	S. R. S. S. S. S. R.	S.T.	"
M. KEITA	H ⁺ 52	"	2é	++	"	R. R. S. S. S. S. R.	H.S.T.	"
B. DAGNO	H ⁺ 49	R.S.	3é	+	"	R. R. S. S. S. S. S.	H.S.	"
Y. TOURE	H ⁺ 29	"	3é	++	"	R. R. R. S. S. R.	H.S.R.T.	"
S. KEITA	H ⁺ 48	"	3é	++	"	R. R. S. S. R. R.	H.S.E.T.	"
Y. DOUMB	H ⁺ 50	"	2é	+	M.kansati	R. R. R. R. R. R.	H.S.R.E.T.	"
Na. DIAK	H ⁺ 37	"	2é	+++	M. tub	R. S. S. S. R. R.	H.E.T.	"
Ma. SISSOKO	H ⁺ 40	"	2é	++++	"	R. S. R. S. S. R.	H.R.T	"
B. DIARRA	H ⁺ 27	"	2é	++++	"	R. R. R. R. S. R.	HH.S.R.T.	"
Y. BARRY	H ⁺ 48	"	1er	+	"	R. R. S. S. S. S.	H.S.	" DC
M. TOGO	H ⁺ 33	"	3é	+++	M. af.	R. R. S. S. S. S.	H.S.	régulé
I. KONE	H ⁺ 48	↑↑↑ C.I.	3é	++	M. tub.	R. R. R. R. R. S.	H.S.R.E.	"
S. DRAME	H ⁺ 55	↑↑↑ France	1er	++	"	R. R. S. S. S. R.	H.S.T.	"

R.C. = Régime Court ; R.S. = Régime Standard ; R. = Résistant et S = Sensible.

La plupart de ces phénotypes de résistance englobent à la fois trois à quatre médicaments utilisés dans notre régime de retraitement court de six mois.

Donc le régime de retraitement court risquera d'être inefficace pour beaucoup d'entre eux.

TABLEAU VI : Taux de fréquence des différents phénotypes de résistance des 16 malades.

Phénotypes de résistance	%
† H.S.	18,75
S.T.	12,5
H.S.T.	12,5
H.S.R.	6,25
H.E.T.	6,25
H.R.T.	6,25
H.S.R.T.	12,5
H.S.E.T.	12,5
H.S.R.E.	6,25
H.S.R.E.T.	6,25
TOTAL	100

Le phénotype de résistance le plus fréquent dans ce tableau est H.S. (18,75 %), suivi des phénotypes de résistance S.T., H.S.T., H.S.R.T., et H.S.E.T. (12,5 %) chacun, puis viennent les phénotypes H.S.R., H.E.T., H.S.R.E. et H.S.R.E.T. (6,25 %) chacun.

6-2 Malades en Retraitement après Rechute

Ces trois malades nous ont été envoyés du DAT pour une reprise des symptômes de leur maladie. Ils avaient été déclarés guéris puisque les contrôles successifs de leurs crachats à la fin d'un premier régime de traitement donnaient toujours des résultats négatifs.

Deux des trois malades avaient reçu le régime de traitement standard et le troisième était soumis au régime de traitement court.

Le premier est revenu au DAT 2 mois après le second 3 mois après et le troisième 6 mois après l'arrêt du traitement. Après examen et analyse de leurs crachats, nous avons obtenu les résultats suivants :

TABLEAU VII : Résultats de l'antibiogramme chez les trois malades en retraitement pour rechute.

.../...

TABLEAU VII : Résultats de l'antibiogramme chez les trois malades en retraitement pour rechute.

Noms et Prénoms	Sexe et age	Régime du 1er traitement	Temps écoulé avant la rechute	Stade de retraitement	Résultats de la baciloscopie	Résultats du test de sensibilité	Résultats du test de sensibilité	Résultats du test de sensibilité	Phénotype
S. TRAORE	H. 33	R.S.	* 2e mois	1er mois	+	M.tub.	R	R S S R	H.S.T.
K. KONE	F. 33	R.S.	3e "	"	+	"	R	S R S R	H.R.T.
M. KOITA	H. 28	R.C.	6e "	"	+	"	R	R S S S	H.S.

R.S. = Régime Standard - **R.C.** = Régime Court - **R.** = Résistant - **S.** = Sensible

Les phénotypes de résistance que l'on rencontre ici sont H.S.T., H.R.T. et H.S., vu leur nombre réduit nous nous sommes abstenu de calculer leur fréquence. Mais il faut noter que la résistance double de deux des trois souches à l'INH et à la SM, et l'inclusion de la rifampicine dans le troisième phénotype réduirait considérablement les chances de succès du retraitement.

6-3 MALADE EN COURS DE TRAITEMENT

a- Rappel du Régime de Traitement

Les malades positifs à la bacilloscopie sont soumis au 1er régime de traitement cours 2 H.R.S.Z. / 6 H.T. durant 8 mois, au régime standard 2 H.T. / 10T ou 10H durant 12 mois.

H = Isoniazide ; R = Rifampicine ; S = Streptomycine ; T = Thiacetazone et
Z = Pyrazinamide.

b- Renseignements sur les malades

Ils sont au nombre de six dont :

- 4 suivaient le régime de traitement standard
et parmi eux :
 - * 1 était positif à son 6è mois de suivi
 - * 2 l'étaient à leur 3è mois de suivi
 - * 1 restait positif à la fin de son 2è mois de suivi.
- Les autres suivaient le régime court de 8 mois dont :
 - * 1 restait positif après son 6è mois de suivi
 - l'autre était positif à son 2è mois de suivi.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

TABLEAU VIII : Résultat de l'antibiogramme chez les malades en suivi de traitement.

Noms et Prénoms	Sexes et ages	Régime de traitement	Stade de suivi au moment du prélèvement	Résultats de la bacilloscopie	Résultats des tests d'identi- fications	Résultats de l'antibiogramme INL SM.Rif.FMB.Tbl	Differents phenotypes de résistance
A. SAMASSE	H. 37	R.C.	6è mois	+	M.tuber.	S. R. R. S. R.	S. R. T. *
F. SOUCKO	H. 28	R.C.	2è "	+	"	S. S. S. S. S.	
S. KOUYATE	F. 43	R.S.	6è "	+	"	R. S. R. S. R.	H. R. T.
F. FOFA NA	H. 50	R.S.	3è mois	+	"	R. S. S. S. S.	H.
A. DOUMBIA	F. 60	R.S.	" "	+	"	S. R. S. S. S.	S.
M. DIARRA	H. 38	R.S.	2è "	+	"	R. R. S. S. R.	H. S. T.

Dans ce tableau les phénotypes de résistance sont H., S., S.R.T., H.S.T. et H.R.T., on note également la rifampicine dans le phénotype de résistance d'un malade qui a été traité par le régime standard.

Si l'on sait que le régime standard ne comporte pas la rifampicine, c'est dire que ce malade a été contaminé par une souche d'emplée résistante à la rifampicine.

.../...

TABLEAU IX : Les différents phénotypes chez les malades en suivi.

Phénotypes de résistance	Nombres
H.	1
S.	1
H.R.T.	1
S.R.T.	1
H.S.T.	1
TOTAL	5

Dans le tableau IX on note que trois malades possèdent encore une forte chance de guérison si les résultats de leur antibiogramme sont exploités à temps et à bon escient. Parmi ces trois malades :

- * 1 est à son 2^e mois de traitement et est sensible à tous les antibiotiques du test.
- * Les deux autres qui sont à leur troisième mois de traitement sont des souches résistantes à un antibiotique : l'une à l'INH seul, et l'autre à la S.M. seule.

Par contre trois autres sont exposés à un échec de traitement, pour la simple raison que l'un présente une double résistance à l'INH et à la S.M., et les deux autres englobent la rifampicine dans leur phénotype de résistance (S.R.T. et H.R.T.) à leur 6^e mois de suivi ; donc même le régime de retraitement court risquera d'être inefficace pour ces deux compte tenu du fait qu'une résistance isolée ou incluant la rifampicine peut rendre inefficace le régime de retraitement court.

TABLEAU X : Comparaison des différents phénotypes de résistance rencontrés chez les trois groupes de malades.

Phénotypes de résistance	Nombre de cas			Total*
	Chez les malades en 1er traitement (régime court ou régime standard)	Chez les malades en re-traitement		
		Pour rechute	Pour non stérilisation	
H.	1	0	0	1
S.	1	0	0	1
H.S.	0	1	3	4
S.T.	0	0	2	2
H.S.T.	1	1	2	4
H.S.R.	0	0	1	1
H.E.T.	0	0	1	1
H.R.T.	1	1	1	3
S.R.T.	1	0	0	1
H.S.R.T.	0	0	2	2
H.S.R.E.	0	0	1	1
H.S.E.T.	0	0	1	1
H.S.R.E.T.	0	0	1	1
TOTAL	5	3	16	24

Une résistance à trois médicaments incluant l'INH et la SM et/ou la rifampicine étant un facteur d'échec thérapeutique.

Une résistance à trois médicaments incluant l'INH et la SM et/ou la rifampicine étant un facteur d'échec thérapeutique.

Il ressort du tableau X que trois des six malades en suivi ont peu de chance de guérison dans leur traitement.

Chez les malades en retraitement, la présence de phénotypes associant trois à quatre médicaments fait que le régime de retraitement est inefficace pour la plupart d'entre eux.

IX - DISCUSSION

C'est dans le souci d'apporter notre contribution à la politique nationale de lutte contre l'endémie tuberculeuse que nous avons réalisé ce travail.

Il porte uniquement sur les anciens malades. Donc, sont exclus de notre échantillonnage, les malades dépistés qui n'ont pas reçu de traitement depuis la découverte du bacille dans leurs crachats.

Ont été admis dans notre étude seuls les malades qui ont été soumis à un régime de traitement antituberculeux durant au moins un mois.

Nous avons voulu par ce travail aborder les aspects bactériologiques de la tuberculose chez ces anciens malades, en traitement ou en suivi de traitement.

La culture, l'identification et les tests de sensibilité ont été faits par nous même au service de Bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P.) à Bamako.

Ce travail, basé uniquement sur les anciens malades est le premier en son genre dans notre pays.

1) EXAMEN DIRECT ET CULTURE :

Toutes les 150 expectorations que nous avons pu collecter ont été toutes positives à la bacilloscopie. Sur ces 150 crachats positifs à l'examen direct et mis en culture, nous avons obtenu 55 poussées soit 36,7 % de cultures positives. Ce taux faible de positivité peut-être dû à plusieurs facteurs qui font qu'une culture faite à partir d'expectorations positives à la bacilloscopie soit négative.

Dans notre cas il pourrait s'agir :

- ~ Des malades sous traitement éliminant des bacilles morts ou quiescents et qui par conséquent ont perdu leur aptitude à pousser sur les milieux de culture

- D'une methode de décontamination brutale (soude à 4 %) avant l'ensemencement
- Du manque de milieu de Loewenstein-Jensen enrichi de pyruvate pendant un certains temps
- D'irrégularité dans la fourniture d'électricité à l'Institut engendrant une inconstance de la temperature à l'interieur des étuves.

2) REPARTITION DES MALADES

2-1 Répartition en Fonction du Sexe

Dans notre échantillonnage il y a plus d'hommes (80 %) que de femmes (20 %). Ce qui confirme les resultats des études antérieures ; notamment celles menées par A. BAH (4) en 1990, (71,74 % d'hommes contre 28,26 % de femmes), S. SANGARE (44) a obtenu aussi 70 % d'hommes et 30 % de femmes en 1982. Et nous constatons ce même rapport dans les thèses de B. SANGARE (43) en 1980 72 % d'hommes pour 28 % de femmes. Mais bien que notre resultat aille dans le même sens que les autres, il est celui qui comporte le pourcentage d'hommes le plus élevé par rapport à celui des femmes. Cela ne signifie pas cependant qu'il existe plus de cas de tuberculose difficilement traitables chez les hommes que chez les femmes.

2-2 Repartition en Fonction de l'âge :

Dans notre échantillonnage composé d'anciens malades, nous avons trouvé que 40 % ont leur âge compris entre 40 et 49 ans, 28 % ont un âge compris entre 30 et 39 ans, 24 % sont entre 20 et 29 ans et 24 % ont un âge \geq 50. Par contre nous n'avons pas rencontré de patients entre 0 et 19 ans.

2-3 Repartition en fonction de la résidence :

Dans cette repartition nous avons trouvé que les malades venant de Mopti sont les plus nombreux, viennent ensuite ceux du District de Bamako, de sikasso, de Kayes, de Koulikoro. Les malades venant de Gao et de Tombouctou sont les moins nombreux.

IDENTIFICATION

Toutes les 55 souches isolées ont été identifiées. Nous avons eu 53 (96,4 %) Mycobacterium tuberculosis, 1(1,8 %) Mycobacterium africanum et 1(1,8 %) Mycobacterie atypique. Nous n'avons pas eu de Mycobacterium bovis.

Le taux faible de M. africanum et le taux de M. bovis seraient peut-être dûs à des difficultés d'ordre materiel, puisque vu le coût et l'entretien difficile du coletsos, nous l'avons remplacé par du Loewenstein-Jensen plus pyruvate qui joue à peu près le même rôle dans l'isolement de M. africanum et de M. bovis.

Mais malheureusement ce milieu de substitution a manqué pendant un certain temps, réduisant ainsi les chances d'isolement des deux espèces dont-il stimule la croissance. L'unique mycobacterie atypique que nous avons rencontré a été identifiée comme étant Mycobacterium kansasii. Les études précédentes sur l'infection tuberculeuse ont montré que les taux réels varient entre 65 à 70 % de Mycobacterium tuberculosis contre 30 à 35 % de M. africanum ; car en 1981-1982 Sangaré (44) trouvait 75 % de M. tuberculosis contre 22,22 % de M. africanum et 2,78 % de M. bovis. En 1982-1983 MAIGA (4) trouvait 65 % de M. tuberculosis pour 32 % de M. africanum ; tandis que les études de A. BAH (4) ont donné sur 120 souches identifiées 95 % de M. tuberculosis contre 2,5 % de M. africanum et 2,5 % de M. atypiques.

Ces résultats déjà disponibles confirment la fréquence plus élevée de l'infection à M. tuberculosis que celle des autres espèces de mycobacteries.

En effet, M. tuberculosis a été retrouvé avec une fréquence de 67,5 % en 1972-1973 par Grosset et Coll (4), 67,2 % en 1979-1980 par TOURE et SANGARE (51). Des études ont été faites dans d'autres pays d'Afrique et selon les publications de l'O.C.C.G.E. N°166/BIO CM 7533/DOC. techn. 80 on a ainsi trouvé : en Mauritanie sur 156 souches 67 M. tuberculosis (57 %), au Niger à Niamey sur 264 échantillons 54,4 % de M. tuberculosis, au Burkina Faso (ex Haute-Volta) sur 55 souches à Dori 59 M. tuberculosis : (89,09 %). En 1987 67,4 % de M. tuberculosis contre 32,6 de M. africanum ; en 1975 sur 429 cultures positives 68 % de M. tuberculosis contre 32 % de M. africanum.

Ce qui nous a permis de savoir :

1°) Que trois des six malades en suivi étaient exposés à un échec de traitement étant donné que leur phénotype de résistance composé de trois médicaments, incluait toujours l'INH et la SM et/ou la RiF.

2°) Que l'on ne pouvait espérer guérir la plupart des malades en retraitement par l'application du seul régime de retraitement, étant donné que la plupart d'entre eux sont résistants à trois ou quatre médicaments de ce régime. Ces différentes constatations nous ont amené à faire les recommandations suivantes :

1°) Améliorer le dépistage et la prise en charge jusqu'à la guérison des malades afin d'éviter que n'augmente le pool de ces malades porteurs de bactéries résistantes (et surtout polymédicamenteuses) et exposés à un risque d'échec thérapeutique.

2°) Etant donné le peu d'espoir de guérir, les malades polymédicamenteux par le régime de retraitement proposé, il est utile de réfléchir à la possibilité d'utiliser pour eux de nouveaux antibiotiques comme les fluoroquinolones actuellement proposés dans le traitement de la tuberculose dans plusieurs pays.

.../...

D'autre part, ces résultats montrent une similitude entre les taux de M.tuberculosis et M. africanum trouvés au Mali et ceux du Burkina-Faso pays voisin.

4) ANTIBIOGRAMME :

L'analyse et l'interprétation des résultats des tests de sensibilité, nous ont permis de faire les constatations suivantes :

1°) Le taux de résistance est très élevé parmi les souches étudiées. En effet, 24 sur 25 souches testées soit 96 % résistent à au moins un antibiotique. Alors que pendant la même période, une étude réalisée par A. BAH (4) a montré un taux de résistance primaire égal à 37,21 % (16/43), ce qui pose le problème d'échec thérapeutique.

2°) Il s'agit le plus souvent d'une polyrésistance. En effet, sur les 24 souches résistantes, deux souches sont monorésistantes (l'une à l'INH seul et l'autre à la SM seule), les autres étant polyrésistantes. Les deux souches monorésistantes proviennent toutes de malades en suivi de traitement de moins de trois mois. Parmi les souches polyrésistantes (au nombre de 22), 27,27 % sont résistantes à deux antibiotiques : dont 18,18 % à l'INH + SM, et 72,73 résistent à au moins trois antibiotiques, parmi eux 31,25 % le sont à l'association INH + SM + RiF.

Nous avons d'autre part étudié et comparé les différents phenotypes de résistance chez les deux groupes de malades à savoir : malades en suivi de traitement et les malades en retraitement (pour non stérilisation et pour rechute).

X - CONCLUSION

Au terme de cette étude sur la résistance du bacille tuberculeux, chez les anciens malades au Mali réalisée à Bamako au laboratoire de bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P.) sur des prélèvements venant du D.A.T. et de l'Hopital National du Point "G." nous avons réussi à collecter 150 échantillons de crachats.

- Tous les échantillons ont été positifs à la bacilloscopie directe.
- 55 cultures ont été positives (36,7 %) sur les 150 crachats ensemencés.
- Nous avons pu identifier ces 55 cultures, et obtenir 53 (96,4 %) M. tuberculosis, 1(1,8 %) M. africanum, et 1(1,8 %) M. atypiques, nous n'avons pas rencontré de M.bovis dans notre étude.
- sur 55 souches identifiées et testées seules 25 antibiogrammes ont été interprétables.

Parmi les 25 tests réussis, une seule souche fut sensible à tous les antibiotiques, deux furent monorésistantes dont une à l'INH seul et l'autre à la SM seule. Toutes les autres souches (22) ont été polyrésistantes. Nous avons obtenu le taux de résistance les plus élevés aux associations INH + SM 62,5 % et INH + SM +RiF 20,83 %. D'autre part une étude des phenotypes de résistance des différentes souches nous a permis de constater que 50 % des malades en suivi de traitement étaient exposés à un échec de traitement, et que l'on ne pouvait espérer guérir les malades polyrésistants par le régime de traitement proposé. On peut se demander s'il n'est pas important d'introduire dans ces régimes pour la prise en charge de ces malades ; les nouveaux antibiotiques actuellement proposés pour le traitement de la tuberculose : les nouvelles quinolones.

Au vu de ces résultats, nous pensons qu'il est souhaitable que tout malade n'ayant pas pu être négativé dans les délais limites de la phase intensive du traitement puisse immédiatement être soumis à un test de sensibilité. Ceci permettra de cerner tous les aspects bactériologiques en rapport avec l'échec thérapeutique et de faire des recommandations dans le sens de l'amélioration de nos schémas thérapeutiques./-

XI - BIBLIOGRAPHIE

1 - ACTUS (E)

An uncommon pathogenic mycobacterium.
Arch. Inst. Past. Tunis 1956. 33 : 245 - 257

2 - ALBERT (J.P.), MENARD (M), RETIF (M)

Résultat des antibiogrammes pratiqués sur les
Mycobactéries isolées au Centre Muraz en 1967 - 1968.
Médecine Africaine Noire 1969 N° 16, 425 - 426.

3 - ANDERSON

Cultural methods of isolation of tubercle bacilli.
Am. Inst. Hlth, 1956, 26. 619 - 624.

4 - BA Aoua

Contribution à l'étude de la résistance Primaire du bacille
tuberculeux au Mali
Thèse Pharm. 1990.

5 - BOISVERT (H.)

L'identification des mycobactéries par la recherche de l'acide
nicotinique.
Ann. Inst. Past. 1960, 99 : 600 - 607.

6 - BOULAHBAL (F.) et GROSSET (J.)

L'utilisation du bromure de Cétyle-pyridinium comme milieu de
transport des crachats tuberculeux.
Inst. Past. d'Algérie. Service de tuberculose. 20 30. 60

7 - BOULAHBAL (F.)

Manuel Technique pour la recherche du bacille tuberculeux au microscope (Aspects Techniques et Economiques)
Inst. Past. Alger et lab. Cent. Tuber. 1983.

8 - BOISVERT (H.)

Mycobacterium Xenopei (Marks et Schwabacher 1965)
mycobactéries Scotochromogènes, thermophile, dysgonique
éventuellement pathogène pour l'homme.
Ann. Inst. Past. 1965, 109

9-CANETTI (G). RIST (N) GROSSET (J).

Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues
antibacillaires par la méthode des proportions, méthodologie,
critères de résistance, résultats, interprétations.
Rev. de Tuberc. (PARIS) 1963 : 217 - 272.

10 - CANETTI (G.) GROSSET (J.)

Technique et indication des examens bactériologiques en
tuberculose. 1 - 130

11 - CASTETS (N.), BOISVERT (H.), GRUMBACH (F.), BRUNEL (N.) et RIST (N.)

Les bacilles tuberculeux, type africain.
Rev. Tuberc. Pneumol, 1968, 32 : 179 - 184.

12 - CHAULET (P.)

Evaluation pratique d'un réseau de dépistage et de traitement de
la tuberculose.
Rev. Inst. Past. Alger : 1989.

13 - COLETSOS (P.J.)

Milieu et modalité de culture adoptée à la réanimation et à la réanimation et à la multiplication in vivo de Mycobacterium tuberculosis de vitalité réduite, de duabilité éphémère ou en état de quiescence.

Ann. Inst. Past. 1959 : 99 475 - 495

14 - DEGOMMIER (J.)

Nouvelle technique de coloration des bacilles tuberculeux pour la recherche en fluorescence.

Ann. Inst. Past. 1959 : 96 - 723.

15 - DOUMBIA (S.)

Organisation de la chimiothérapie tuberculeuse au Mali (à l'exclusion de la région de Kayes).

Thèse de Med. Bamako 1978.

16 - DIPENSAIRE ANTITUBERCULEUX DE BAMAKO (D.A.T.) Mali

Direction pour le traitement de courte durée des nouveaux cas de tuberculose pulmonaire.

Manuel. Thérapeutique 1989 D.A.T. Bamako (Mali).

17 - DISPENSAIRE ANTITUBERCULEUX DE BAMAKO (D.A.T.) Mali

Direction pour le régime court de retraitement

Manuel thérapeutique (D.A.T.) Bamako 1989.

18 - DUVAL (J)

Les antibiotiques anti tuberculeux et non anti tuberculeux
Agrégé, d'Antibiothérapie
Masson - Paris 4è édition 1990

19 - FRANKEL (G.)

L'infection bacillaire et la tuberculose
Masson et Cie, Edit. 1936, 16.

20 - GERNEZ-RIEUX (CH.), TACQUETA DEVULDER (B.) et de BRUYNE (J.)

Les mycobactérioses humaines. Méthodes actuelles de diagnostic
bactériologique. Aspects cliniques et épidémiologiques.
XVIè Congrès National de la tuberculose et des maladies
respiratoires.
Bordeaux 1970 Masson. édit. Paris, 1971.

21 - GIRLING (D.J.)

Effets secondaires des médicaments antituberculeux.
Rept°. d'Art. 1989.

22 - GROSSET (J.)

Les principes bactériologiques des traitements de la tuberculose
Bull. de l'U.I.C.T. 1989. 5. 20 - 70

23 - GROSSET (J.) et TRUFFOT (C.)

Le laboratoire : son rôle dans le diagnostic et le traitement de
la tuberculose.
Rev. Franc. Mul. resp. 1989, 3. 1 - 100

24 - GROSSET (J.) et MEYER (L.)

Mycobactéries atypiques et mycobactérioses.

Encycl. Med. Chir. Paris, Maladies infectueuses 80 C ¹⁰₇ 1980.

25- HEINRICH (J), MAGDALENE (O), ANNIK (R.), KAREL (S.)

Guide de la tuberculose pour les pays à haute prévalence.
Misercor. Allemagne : 1988. et Masson.

26 - HUET (M.) et RIST (N.)

Intérêt des milieux au pyruvate pour la culture du bacille
tuberculeux en Afrique Noire.
Union. Inter. Tuberc. 1973, 43 : 97 - 102.

27 - HUET (M.), RIST (N.), BOUBE (G.) et POITIER (D.)

Etude bactériologique de la tuberculose au Camérout.
Rev. Tuberc. Pneumol. 1971, 35 : 413 - 426.

28 - KOUMARE (B.), TRUFFOT (C.) et GROSSET (J.)

Les espèces mycobactériennes isolées chez les tuberculeux
pulmonaires au Mali et leur sensibilité aux antibiotiques.
coll., Inst. Past. Février 1981

29 - KOUMARE (B)

Nouvelle contribution à l'étude bactériologique de la
tuberculose pulmonaire au Mali.
Thèse Pharmacie - Bamako 1982.

30 - LAMBIN (S.), GERMAN (A.)

Précis de microbiologique.
Edit. Masson et Cie, Paris, 1969.

31 - LANGEROVA. RACQUET (A.)

Comparaison des différentes méthodes d'homogénéisation et de purification des produits pathologiques en fonction du milieu de culture solide ou liquide.

Bull. Org. Mond. Santé. 1968. 39 : 663 - 680.

32 - LEBAUX (B.) et ROCHEMAURE (J.)

Indications, Posologie et Association des Grandes Médications Antituberculeuses.

Rev. P. Ch. ant. 1979 : 29 - 33.

33 - MEYER (L.)

Evolution, significations et caractères épidémiologiques de la résistance primaire du bacille tuberculeux en France de 1962-1972. Thèse de Med. Paris 1974.

34 - MEYER (L.) et DAVID (H.)

Mycobactériologie en santé publique
Serv. Tub. Mycob. Inst. Past. Paris 1977.

35 - MEYER (L.) et DAVID (H.)

Mycobactériologie en santé publique.
Inst. Past. 1980.

36 - MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE D'ALGERIE

Guide technique à l'usage des médecins responsables de lutte antituberculeuse.

Edit. 1989.

37 - MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE BENINOIS

Guide du programme national contre la tuberculose.
Edit. 1987.

38 - MOKHTARI (Z.)

Les méthodes simplifiées du diagnostic bactériologique
de la tuberculose "Aspects Techniques et
Economiques".

Inst. des scien. médicales. Alger. 1983-1052-7-1-35.

39- MOUSTARDIER (G.)

Bactériologie médicale.

Maloine S.A. édit. Paris. 1972 : 923 - 993.

40 - PARROT (R.), BRAUN (J.), GAILLAR (J.P.), SORS (CH.) et GROSSET (J.)

Les mycobactérioses pulmonaire à Mycobacterium
xenopel. A propos de 50 cas, éléments de diagnostic
Rev. Franç. : Mal, Rep. 1979 , 7 : 501 - 503.

41 - PENSO (G.)

Premier colloque international sur les mycobactéries
P.G. Janssens, édit. Anvers 1959, P : 52-70.

42 - PETTROF (S.A.)

Some cultural studies on the tubercle bacilli.
Bull. Johns Hepkins Hosp. 1915 : 276 - 279.

43- SANGARE (B)

Aspects bactériologiques de la tuberculose pulmonaire à
Bamako. Mémoire de Pharmacie 1980 - Bamako : 1-96.

44- SANGARE (S.)

Nouvelle contribution à l'étude bactériologique de la
tuberculose pulmonaire au Mali.

Thèse Pharmacie - Bamako 1982.

45 - SEMEGA (C.)

Problème de la lutte antituberculeuse dans les zones rurales du Mali. Etude critique du projet pilote de Kayes.
Thèse Med. Bamako 1977.

46 - TACQUET (A.) et TISON (P.)

Nouvelle technique d'isolement des mycobactéries par le Lauryl sulfate de sodium.
Ann. Inst. Past. 1961, 100 : 676 - 680.

47 - TAN. THIAM (H.)

A simple and rapid staining method for acide fast bacteria.
Am. Rév. Resp. Dis. 1965, 85 : 753 - 754.

48 - TISON (F.)

Elimination des germes banaux dans les crachats destinés à la culture du bacille de Kock. Application et perfectionnements.
Ann. Inst. Past. 1951, 80 : 659 - 661.

49 - TISON (F.), CARBONNELLE (B.)

Recherche, isolement et étude du bacille tuberculeux et des autres mycobactéries en pratique courante. 1972. P : 66.

50 - TOMAN (K.)

Dépistage et chimiothérapie de la tuberculose.
Edit. Masson. 1980.

51 - TOURE (I.M) et SANGARE (S)

Contribution à l'étude des souches de mycobactéries isolées à Bamako et leur sensibilité aux différentes drogues antibacillaires.

Af. med. 1980.

N° 21 10 - 20

52 - VIVIEN (J.N.)

Les antibiotiques antituberculeux autres que la Rifampicine, l'isoniazide, l'éthambutol?

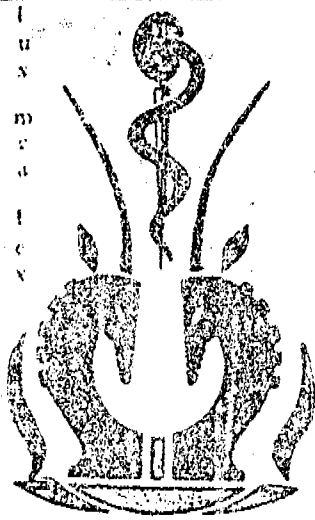
R.P. Ch. Ant. 1979 : 29 - 33.

53 - YOUMANS (G.P.), WILLISTON (E.H.), FELDMAN (W.H.), HINSCHAW (H.C.)

Increase in resistance of tubercle bacilli to streptomycin.

Prelim report.

Proc. Staff. Meet, Mayo, clin 1946, 21 : 126 - 127.



SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples ;

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

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

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