MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Réf : ……./UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière** : Sciences Biologiques
Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

AIS Samia & **AIS Kenza**

Thème

Bacilloscopie direct dans le diagnostic de la Tuberculose pulmonaire

Soutenu le : 28 / 06 / 2018 **Devant le jury composé de :**

Nom et Prénom	*Grade*		
M. LEKBAL Farouk	*MAA*	*Univ. de Bouira*	*Président*
Mme. SAIT Sabrina	*MCB*	*Univ. de Bouira*	*Promoteur*
Mme. Tighidet Salima	*MAA*	*Univ. de Bouira*	*Examinateur*

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciements

Au terme de ce travail, il m'est agréable d'adresser mes remerciements à tous ceux qui m'ont prêté main forte pour sa réalisation.

Nous remercions en premier lieu le Bon Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la santé et la volonté pour continuer et achever ce travail.

Nous tenant à remercier vivement ma promotrice, Mme SAIT-DIB Sabrina, pour avoir accepté de nous encadrer. et aussi pour l'effort fournis, pour ses encouragements constants, ses précieux conseils, sa bienveillance, son soutien et surtout pour sa qualité humaine, sa modestie, sa disponibilité, tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Notre gratitude va aussi à tous les membres du jury qui, ont accepté de porter un jugement à ce mémoire;

- à Monsieur LEKBAL Farouk Maitre assistant A à l' université de Bouira, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider ce présent jury.
- à Madame TIGHIDET Salima, Maitre assistant A à l' université de Bouira d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Non plus vifs remerciements s'adressent également au *Dr SAYEH* et ses travailleurs en particulier *Mr Djamel et* le chef du Laboratoire de Microbiologie Mlle chaabane N.

En fin nous tenant à exprimer notre profond remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de nos études et tout particulièrement aux enseignants de la spécialité.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à toute ma famille, qui m'a été la source d'encouragements et d'assurance durant mes séjours à l'université en particulier à:

- ***A ceux qui m'ont donné la vie, symbole de beauté, et de fierté, de sagesse et de patience. A mes chers parents.***
- ***A mon frère et à mes sœurs, chacun a contribué à sa manière à la réalisation de ce travail.***
- ***A ma chère copine et binôme : Kenza et à toutes sa famille.***
- ***A mes chères copine : Nadia, Nawal, Yamina, Amel, Siham.***
- ***A tous et à toutes, je dédie ce travail.***

Samia. A

DEDICACES

Je dédis ce mémoire

- ***A mon père : Ais Saleh***
- ***A ma mère : Zouiche Louisa***

Que Dieu vous accorde santé et longue vie.

Que ce travail soit une consolation pour tous vos efforts.

- ***A mon frère et mes chères sœurs.***
- ***A sissin, mamine, djamila et oncle Ali***
- ***A mon mari Sidali et sa famille***

Ce travail est le tien car tu as été présent toujours à mes cotés. Ton soutien sera toujours pour moi un second souffle. Sois rassuré de mon amour.

- ***A ma chère binôme : Samia***
- ***A tous ceux et celles que je n'ai pas pu citer nommément***

Je ne pense pas moins à vous.

Kenza. A

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abreviation

Introduction…….....……...……...**1**

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I Mycobactéries……...……..….**2**

I-1.Généralités ……..…….....**2**

I.2. Classification des mycobactéries ……..……...……..….**3**

I.3. Caractéristiques de *Mycobacterium tuberculosis*……..…..**3**

I.3. 1.Caractères morphologiques …...…….…….…**3**

I.3. 2. Caractères culturaux ……...…….……...**4**

I-3-3.caractères génique..…….……....…… **4**

I.4. Résistance aux agents physiques et chimiques……..…….……..**4**

I-5. Pathogénicité des mycobactéries du complexe M. tuberculosis…….…….**5**

I.6. Enveloppe de mycobacterium tuberculosis…….……..**5**

II. Historique de la tuberculose……...….……**7**

II.1 Formes cliniques de la tuberculose…… ……..……..…….……**7**

II.1.1 La tuberculose pulmonaire…….……..……**7**

II.1.2 La tuberculose extra pulmonaire ……..……..….……..**8**

II.2.Epidémiologie…….…….**8**

II.2.1 Facteurs sociaux et comportementaux…….…….....……**9**

II.2.2. Facteurs physiologiques et génétiques……...……**10**

II.2.3. Facteurs liés à une immunosuppression……...……..…**10**

II.5. Les symptômes clinique… …… …….……....….…**10**

II.6.Transmission…….…….....….**10**

II.7.Diagnostic…… ……..……..….….…**11**

II.7.1-Diagnostic bactériologique…….....…….....…….……**11**

II.7.2-Diagnostic direct…….……...…….……**12**

II.7.3-Diagnostic indirect…….…….…**12**

II.8.Traitement de la tuberculose pulmonaire……..…….**13**

Chapitre II : Matériel et Méthodes

I. Cadre de l'étude et Objectif de l'étude…….....……..……**14**
II. Prélèvements…… …….....…...……**14**
III. Examen microscopique (Bacilloscopie)…….....……..….**15**
III. 1. Réalisation du frottis…… …….....…….……..**15**
III.2. Réalisation du frottis…… …….....……**15**
III.3. Coloration par la technique de ZIEHL NEELSEN…….....……...**16**
III.4. Observation microscopique et lecture du frottis…….....……**19**
IV. Culture sur gélose Lwenstein-Jensen……..….....……**20**

Chapitre III : Résultats et Discussion

I. Diagnostic de la tuberculose pulmonaire…….....……..……**22**
I. 1- par bacilloscopie……..……...……..**22**
I. 2- par culture…….……...……..**23**
II .Résultats d'examen microscopique ……...…..……**24**
II .1-par bacilloscopie…….……..……**24**
II .2.Résultats de la recherche du Mycobactéries par culture…… …….…….....…….**24**
III. Répartition des tuberculeux selon l'unité de santé …… ……....…….…….**25**
III.1.Répartition des tuberculeux selon le sexe…… ……....……..……..**25**
III.2. Répartition des tuberculeux selon l'âge……..…...……..**26**
III.3.Répartition des tuberculeux en fonction des maladies associées……...…....…..**27**
Conclusion……...…….**30**
Références bibliographiques
Annexes
Résumé

Liste des figures

Figure n°1 : *M. tuberculosis* par microscopie électronique à balayage, après coloration de Ziehl-Neelsen (A), Colonies *M. tuberculosis* sur gélose Lowenstein-Jensen (B)……..…..**04**

Figure n° 2: Représentation schématique de l'enveloppe de *M. tuberculosis*…….……***06***

Figure n°3: Incidence de la tuberculose toutes formes confondues en 2009 selon les Wilaya……...…**09**

Figure n°4: Transmission interhumaine des mycobactéries…… ……...…**11**

Figure n°5 : Image des frottis avec le numéro de chaque échantillon……...……..**15**

Figure n°6: Image de coloration des lames par la fuchsine… ……..…..**16**

Figure n°7: Chauffage des lames……...……..……**17**

Figure n°8: Rinçage des lames……..……..**17**

Figure n°9: Additionnement de l'acide sulfurique……...……..…….**18**

Figure n°10: Additionnement de l'alcool……..……..……**18**

Figure n°11: Additionnement de bleu de méthylène…….…….....…**19**

Figure n°12: Séchage des lames à l'air libre…….……...…**19**

Figure n°13 : Tuberculose pulmonaire a frottis positif par Bacilloscopie…….…..……**24**

Figure n°14 : Tuberculose pulmonaire a frottis positif par culture……..…..…….**25**

Figure n°15 : Répartition des patients à BAAR positif selon le sexe……..…....…**25**

Figure n°16 : Répartition des malades selon l'âge……..…….....….**26**

Figure n°17 : Répartition des tuberculeux en fonction de maladies associées…….....…..**27**

Liste des tableaux

Tableau I: Pathogénicité des mycobactéries du complexe *M. tuberculosis*.....**05**

Tableau II: Tableau représentatif des résultats de la Bacilloscopie……..……...…….**20**

Tableau III: les échantillons examinés par bacilloscopie (étude des crachats).....**23**

Tableau IV: les échantillons examinés par culture **23**

Tableau V: Répartition des malades selon l'âge…….…….**26**

LISTE DES ABREVIATION

BAAR: bacille acido alccolo resistant

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

BK : Bacille de Koch

IDR : L'intradermo-réaction

OMS : Organisation mondiale de la santé

PH : Potentiel Hydrique

TB: Tuberculose

TP : Tuberculose pulmonaire

UV : Ultra Violet

VIH : Virus d'immunodéficience humaine

Introduction

Les bactéries pathogènes constituent une menace majeure pour la santé humaine, que ce soit de manière naturelle ou liée aux activités humaines **(Daffé et *al.*, 1987).**

La Tuberculose (TB) humaine est une maladie qui a été reconnue depuis la haute Antiquité **(Cosivi et *al.*, 1995).** Elle représente un véritable fléau avec près de neuf millions de nouveaux cas chaque année dans le monde. Plus de 80% de l'ensemble des patients atteints de tuberculose vivent en Afrique subsaharienne ou en Asie **(Ajmi et *al.*, 2010).**

Il s'agit d'une maladie contagieuse. Selon l'OMS, chaque année près de 8,8 millions d'infections et de 2 millions de décès sont enregistrés. D'après cette même organisation pour l'année de 2015, elle est la maladie infectieuse la plus mortelle devant le SIDA **(Poulet, 1994; Ajmi et *al.*, 2010 ; OMS, 2015)**.

Selon l'Union Internationale de Lutte Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires (U.I.C.T.M.R), «la tuberculose est une maladie infectieuse provoquée dans la plus part des cas par un bacille appelé *Mycobacterium tuberculosis* **» (Diarra, 2009).** L'atteinte pulmonaire est la plus fréquente des localisations et représente la source habituelle de transmission; cependant, le bacille peut atteindre d'autres organes, provoquant ainsi la tuberculose extra-pulmonaire **(Aubry, 2014).**

Néanmoins, la compréhension de l'épidémiologie de la tuberculose et les actions de son control et traitement deviennent actuellement complexes, essentiellement après émergence de bacilles tuberculeux résistants aux antibiotiques.

L'Algérie est classée dans la catégorie des pays à moyenne incidence pour la tuberculose, cependant, rares sont les travaux sur l'épidémiologie de cette maladie **(PNLCT, 2011)**. A cet effet, nous avons entamé cette étude dans le but d'apporter quelques éléments de réponses aux questions suivantes :

- Que sait-on sur l'incidence et l'épidémiologie des infections par *M. tuberculosis* chez la population de Bouira ?
- Existent-ils des facteurs de risques spécifiques favorisant l'émergence de ces infections ?

Pour atteindre ces objectifs, nous avons adopté la démarche expérimentale qui consiste à :

- Isoler, cultiver et identifier les souches de *M. tuberculosis* de différents prélèvements,
- Vérifier l'implication probable, des quelques facteurs de risque.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

Les bactéries pathogènes constituent une menace majeure pour la santé humaine, que ce soit de manière naturelle ou liée aux activités humaines **(Daffé *et al.*, 1987).**

Selon l'Union Internationale de Lutte Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires (U.I.C.T.M.R), «la tuberculose est une maladie infectieuse provoquée dans la plus part des cas par un bacille appelé *Mycobacterium tuberculosis* **» (Diarra, 2009).** L'atteinte pulmonaire est la plus fréquente des localisations et représente la source habituelle de transmission; cependant, le bacille peut atteindre d'autres organes, provoquant ainsi la tuberculose extra-pulmonaire **(Aubry, 2014).**

La Tuberculose (TB) humaine est une maladie qui a été reconnue depuis la haute Antiquité **(Cosivi *et al.*, 1995).** Elle représente un véritable fléau avec près de neuf millions de nouveaux cas chaque année dans le monde. Plus de 80% de l'ensemble des patients atteints de tuberculose vivent en Afrique subsaharienne ou en Asie **(Ajmi *et al.*, 2010).** Elle est responsable chaque année du plus grand nombre de décès dans le monde, plus que le paludisme, le choléra, la diphtérie…et tant d'autres maladies infectieuses réunies **(Poulet, 1994).**

I -Les mycobactéries

I-1.Généralités

Les mycobactéries sont des bacilles immobiles non sporulés, aérobies strictes, rectilignes ou incurvés, de 0,2 à 0,6 μm de large et de 1 à 10 μm de long tuberculeux sont rectilignes ou légèrement incurvés, aérobies ou microaérophiles, non sporulant et possède une capsule **(Harshey *et al.*, 1977, Goodfellow, 1984).**

Les mycobactéries sont caractérisées également par une paroi très particulière (riche en lipides) au sein du monde bactérien ce qui leurs confèrent, entre autres, la capacité d'échappement au système immunitaire, des propriétés tinctoriales spécifiques et une résistance à de nombreux antibiotiques. C'est un germe résistant au froid, à la dessiccation, humidité, lyophilisation, aux antiseptiques et aux détergents , à l'acide et aux bases fortes. De fait, cette propriété est utilisée pour leur coloration : la coloration Ziehl-Neelsen, coloration à la fuchsine phéniquée avec une étape de décoloration à l'acide et l'alcool, et seules les mycobactéries résistent à cette décoloration. Ce sont donc des bacilles dits Acido-Alcoolo Résistants ou BAAR (**Shinnick, 1994).** Cependant, elles sont sensibles à la chaleur, lumière, rayon X et UV **(Meyssonnier, 2012).**

Par leurs aspects cliniques et épidémiologiques, les infections dues à des mycobactéries sont divisées en trois grandes entités: la lèpre causée par *Mycobacterium*

leprae, la tuberculose dont les agents étiologiques sont les bacilles tuberculeux **(*M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum*)** et les mycobactérioses provoquées par les mycobactéries commensales dites « **atypiques » (Denis *et al.*, 2011).**

I-2. Classification des mycobactéries

Les mycobactéries sont actuellement classées selon le Bergey's manual of systematic bacteriology (2007):

Domaine : *Bacteria*

Classe : *Actinobacteria*

Ordre : *Actinomycetales*

Famille : *Mycobacteriaceae*

Genre : *Mycobacterium*

Especes *:*

Complexe *M. tuberculosis* (Mycobactéries tuberculeuses*):* *M. tuberculosis, M.africanum, M.bovis.*

Mycobactéries atypiques (**Mycobactéries non tuberculeuses):** *M.avium-intracellulare, M.marinum, M. xenopi, M.kansasii.*

Mycobactéries non cultivables: *M.leprae, M.lepramurium*

I.3. Caractéristiques de *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis, dénommé bacille de Koch, est l'agent responsable de la tuberculose. C'est un important pathogène pour l'homme, infectant un tiers de la population mondiale **(*Botella,* 2011 ; Bruns et *al.*, 2014)**. *Mycobacterium tuberculosis* est capable d'infecter certaines espèces animales vivant à ses côtés (chat, chien) **(Flandrois, 1997).**

Toutes les mycobactéries, capables de causer cette maladie sont regroupées sous la dénomination « Complexe *Mycobacterium tuberculosis »* **(Koeck *et al.*, 2005)**. D'après **Younoussou, (2010),** le poumon offre les conditions idéales de multiplication aux bacilles : température à 37°C, obscurité et richesse en oxygène.

I-3-1. Caractères morphologiques

M. tuberculosis se présente sous la forme d'un bâtonnet fin, d'une longueur de 2 à 5µm sur 0,2 à 0,3µm de large (Figure n° 1 A). Il est immobile, et se présente en petits amas ou sous forme isolée, aérobie. Il résiste bien au froid et à la dessiccation et peut demeurer vivant plusieurs jours dans des produits contaminés tels que des produits d'expectoration. **(Flandrois, 1997).**

I-3-2. Caractères culturaux

Les mycobactéries se caractérisent par une croissance lente avec un temps de génération de 12 à 24h **(Harshey et Ramakrishnan, 1977).**

M. tuberculosis ne pousse pas sur les milieux usuels et nécessite des milieux très enrichis. Le plus employé est un milieu à l'oeuf, dit milieu Lowenstein-Jensen, sur lequel les colonies sont de teinte crème-beige, sèches, à surface rugueuse, en forme chou-fleur (Figure n°1B). L'apparition des colonies n'est observable qu'à partir du 21eme jour en moyenne **(Hmdad , 2007)**.

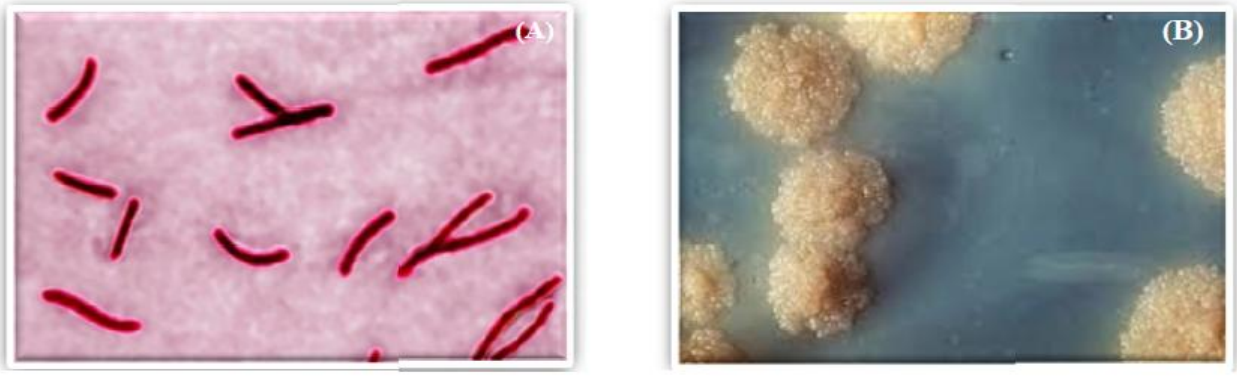

Figure n°1 : *M. tuberculosis* par microscopie électronique à balayage, après coloration de Ziehl-Neelsen (A), Colonies *M. tuberculosis* sur gélose Lowenstein-Jensen (B).

M. tuberculosis est producteur d'une catalase, nitrate réductase, peroxydase et d'une uréase. Au cours de sa croissance il synthétise une quantité importante d'acide nicotinique (niacine), qui peut être mis en évidence par l'épreuve biochimique dite test de KONNO (niacine-test) **(Ait Khaled et *al.*, 1999)**.

La température optimale de croissance est de 35 – 37°C**(Nadia *et al.*, 1999).** Les variations de pH supportées sont faibles, elles sont comprises entre 6 et 8. Le pH optimal est de 6,7 **(Pilet *et al.*, 1979).**

I-3-3.caractères génique

Le génome de *M. tuberculosis* comprend 4 411 529 paires de bases (pb), contient environ 4000 gènes, et a un contenu très élevé en guanine + cytosine (GC % : 65,6). Cela représente la deuxième plus grande séquence bactérienne d'un génome actuellement disponibles (après celle d'*Escherichia coli*) **(Cole *et al.*,1998).**

I.4. Résistance aux agents physiques et chimiques

Mycobacterium tuberculosis est sensible aux agents physiques comme les rayonnements ionisants, les UV et la lumière, il peut survivre également au froid et à la

dessiccation . Sa sensibilité aux agents chimiques est variable , il résiste à de nombreux antiseptiques ; aux bases et aux acides dilués **(Ramarokoto *et al.*, 1999).**

selon **Blood et al, (1982),** *Mycobacterium tuberculosis* , résiste à la plupart des désinfectants usuels, aux alcools et aux acides. Cependant, elles sont généralement sensibles aux désinfectants chlorés, iodés, formolés et crésolés. En effet, le bacille tuberculeux peut être détruit par le phénol à 2%, le crésol à 3% pendant 4 heures, alors qu'il est détruit par la teinture d'iode en 5 minutes**.**

I-5. Pathogénicité des mycobactéries du complexe *M. tuberculosis*

Tableau I: Pathogénicité des mycobactéries du complexe *M. tuberculosis* **(Mostowy *et al.*, 2005).**

« Mycobactéries du complexe *M. tuberculosis* »	**Pathogénicité**
Mycobacterium tuberculosis ou bacille de Koch	Tuberculose humaine la plus fréquente
Mycobacterium bovis	Tuberculose humaine (< 1% des cas)
	Tuberculose des bovidés
Mycobacterium africanum	Tuberculose humaine (< 1% des cas)
Mycobacterium microti	Non pathogène pour l'homme Infecte les campagnols, cobayes et lapins

I.6. Enveloppe de *mycobacterium tuberculosis*

- ✓ **Structure et composition**

Les bactéries du genre *Mycobacterium* répondent positivement à la coloration de Gram bien que l'architecture de leur paroi cellulaire soit proche de celle des Gram négatifs.

L'enveloppe des mycobactéries est caractérisée par une teneur élevée en lipides : entre 30 et 60% de la masse sèche**.** Parmi ces lipides, les acides mycoliques confèrent,aux mycobactéries une particularité de coloration dénommée acido-alcoolo résistance qui permet de les différencier de la majorité des autres bactéries lors de la coloration de Ziehl- Neelsen, coloration à la base du test diagnostic le plus couramment utilisé pour mettre en évidence une tuberculose **((Anderson, 1940; Minnikin, 1982).** Les acides mycoliques également confèrent à la mycobactérie la plupart de ses résistances. Ils bloquent notamment la pénétration de certains composés hydrophiles, lui procurent une protection contre la déshydratation et jouent un rôle conséquent dans la virulence et la modulation des réponses immunitaires de l'hôte

(Vander *et al.*, 2011). Les acides mycoliques sont essentiels à la viabilité des mycobactéries **(Takayama *et al.*, 1972).**

Cette enveloppe est composée schématiquement (Figure n°2), en allant du cytoplasme vers l'extérieur, de trois (03) couches :

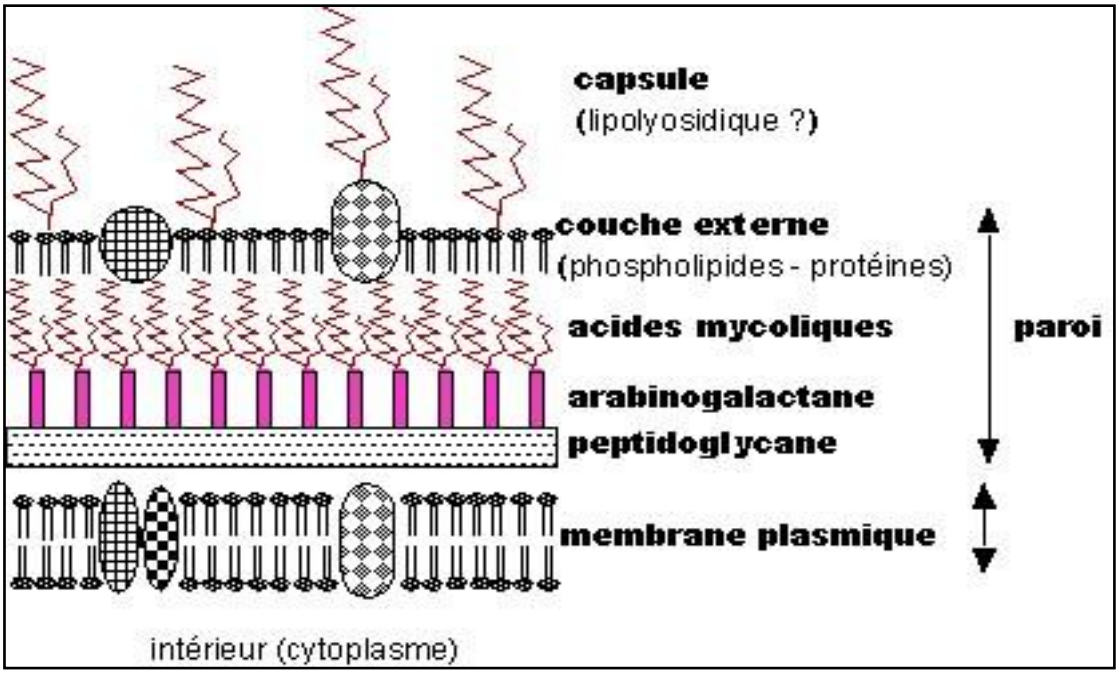

Figure n°2: Représentation de l'enveloppe de *M. tuberculosis* (**Daffe *et al.*, 1918**).

- ✓ Une membrane cytoplasmique qui forme une barrière perméable entourant le cytoplasme;
- ✓ Le squelette pariétal formé du complexe peptidoglycane-arabinogalactane et acides mycoliques (acides gras à longue chaine);
- ✓ Le peptidoglycane est responsable de la rigidité de la paroi et a une particularité de présenter des liaisons peptidiques interchaines;
- ✓ L'arabinogalactane c'est un polysaccharide majeur du squelette pariétal mycobacterien, les penta-arabinosyles jouent un rôle d'épitopes impliqué dans la reconnaissance antigène-anticorps;
- ✓ Trois types d'acides mycoliques ont été caractérisés dans *M. tuberculosis*, qui sont impliqués dans la diminution de la perméabilité membranaire;
- ✓ La couche externe joue un rôle important dans la physiologie bactérienne, de plus elle module la réponse immunitaire et constitue un facteur important de la pathogénicité du bacille **(Daffé, 1996).**

II. Historique de la tuberculose

La Tuberculose (TB) humaine est une maladie qui a été reconnue depuis la haute antiquité. Elle a été décrite par Hippocrate sous le nom de «phtisie» et ses lésions ont été diagnostiquées sur des momies égyptiennes **(Cosivi *et al.,* 1995).** C'est ainsi que « les caries vertébrales » du moyen âge ont été reconnues comme d'origine tuberculeuse par P. POTT (1713-1788) **(Nguyen *et al.,* 1999).**

En 1818, Laennec invente le stéthoscope qui va grandement faciliter le diagnostic de la tuberculose **(OMS,2013).** En 1831, Gurlt a mis en évidence des similitudes entre la TB humaine et bovine **(Basset, 1953).**

Aristote a soupçonné sa nature contagieuse, mais elle ne fut mise en évidence par A. Villemin qu'en 1865 **(OMS, 2013).**

En 1873, Hansen découvre que la lèpre est causée par un fin bacille **(Hansen. 1874).**

En 1882, R. KOCH découvre le bacille tuberculeux humain: *Mycobacterium tuberculosis* et réussi sa culture sur sérum de boeuf coagulé en 1884. Il mis au point la tuberculine **(Nguyen *et al.,* 1999).**

De 1908 à 1920 A. Calmette et C. Guérin ont mis au point le BCG à partir d'une souche vivante atténuée de bacille tuberculeux bovin et il eu une vaccination à partir de 1921 **(OMS, 2013).**

En 1944, S.A. WAKSMAN découvre le premier antibiotique actif contre le bacille tuberculeux: la streptomycine **(Grellet *et al.,* 1983).**

II.1. Formes cliniques de la tuberculose

II.1.1. La tuberculose pulmonaire

C'est une infection contagieuse mortelle causée par des bactéries appartenant au complexe *Mycobacterium tuberculosis* , principalement l'espèce *Mycobacterium tuberculosis* (bacille de Koch [BK]) mais aussi par M. africanum et M. bovis (**El khéchine *et al.,* 2011).** C'est la forme la plus fréquente de la maladie qui concerne plus de 70% des cas de tuberculose active (**Valin *et al.,* 2010).** La tuberculose pulmonaire est le résultat soit d'une surinfection exogène à partir d'un sujet très contagieux (tuberculose primaire), soit d'une réinfection tuberculeuse, granulome ou tuberculose pulmonaire insuffisamment traitée ayant laissé des bacilles vivants **(Diallo *et al.,* 2003).**

II.1.2. La tuberculose extra pulmonaire

C'est la localisation du bacille tuberculeux dans un organe autre que le poumon. Elle est souvent asymptomatique sur le plan général. Le diagnostic est difficile et repose sur des arguments cliniques, biologiques, radiologiques, histologiques et parfois bactériologiques. Les manifestations extra pulmonaires les plus connues sont les lymphadénites tuberculeuses, la pleurésie tuberculeuse, la tuberculose uro-urinaire, ostéo-articulaire, méningite tuberculeuse et la tuberculose miliaire qui résulte d'une dissémination hématogène, diffuse des mycobactéries en un ou plusieurs points de l'organisme et surtout aux poumons d'éléments nodulaires de petite taille d'origine tuberculeuse **(Heifets *et al.*, 2005).**

II.2.Epidémiologie

- **Dans le monde**

En 1990, 1,7 Milliards de sujets étaient infectés par le bacille de koch soit 1/ 3 de la population mondiale. En Afrique le risque annuel d'infection est de (1,5 à 2,5%) ainsi plus de 50% des adultes sont infectés par le bacille de koch et risque de développer une tuberculose, 95% des cas surviennent dans les pays en voie de développement ou l'incidence annuelle va de 12O/100 000 Habitants en Amérique Latine à 229 /100 000 habitants en Afrique **(Pichard *et al.*, 2000).**

Les populations pauvres et marginalisées des pays en voie de développement sont les plus touchées: 95 % de l'ensemble des cas et 98% des décès **(OMS. 2004-2005*).*** En 1993 l'OMS a inscrit la tuberculose au nombre des urgences mondiales.

La tuberculose est la maladie infectieuse qui provoque le plus grand nombre de décès dans le monde. 75% des cas se déclarent dans le groupe d'âge des 20-49 ans, qui représente les forces vives de la population. **(OMS, 1997).**

En 2011, on estimait à 8,7 millions le nombre de nouveaux cas de tuberculose avec 13% coinfectés par le VIH et 1,4 millions de décès **(OMS, 2012).**

En 2014, le plus grand nombre de nouveaux cas de tuberculose a été enregistré en Sud-est d'Asie et dans la région du pacifique occidental, qui totalise 58% des nouveaux cas à l'échelle mondiale. L'Inde et la Chine représentent 40% des cas déclarés en 2011, et l'Afrique 24%. Le taux d'incidence le plus élevé se retrouve en Afrique subsaharienne **(World Health Organization, 2010; OMS, 2015**). En 2010, la tuberculose a provoqué 1,45 million de décès, dont 350 000 étaient des cas de co-infection *M. tuberculosis*/VIH. Les patients infectés par le VIH représentent environ 13% des cas de tuberculose, l'Afrique comptant pour environ 80%

de ces cas. Parmi les 5,7 millions de nouveaux cas de tuberculose notifiés en 2010, environ 5% sont des formes résistantes au traitement antituberculeux. Ce taux atteint environ 30% en Asie du Sud-est, dans le Pacifique occidental **(OMS, 2011b).**

❖ **En Algérie**

Au cours de la période 1962-2010, l'Algérie, jadis pays à haute prévalence de tuberculose, a rejoint depuis le début des années 1980 le groupe des pays à prévalence modérée. On dénombre environ20 000 cas chaque année de tuberculose toutes formes confondues où l'incidence annuelle de cette tuberculose se situe entre 20 et 99 cas pour 100000 habitants **(Boulahbal *et al.*, 2004).** La répartition géographique des cas déclarés de tuberculose toutes formes confondues selon les wilayas est très inégale (Figure n°3) .

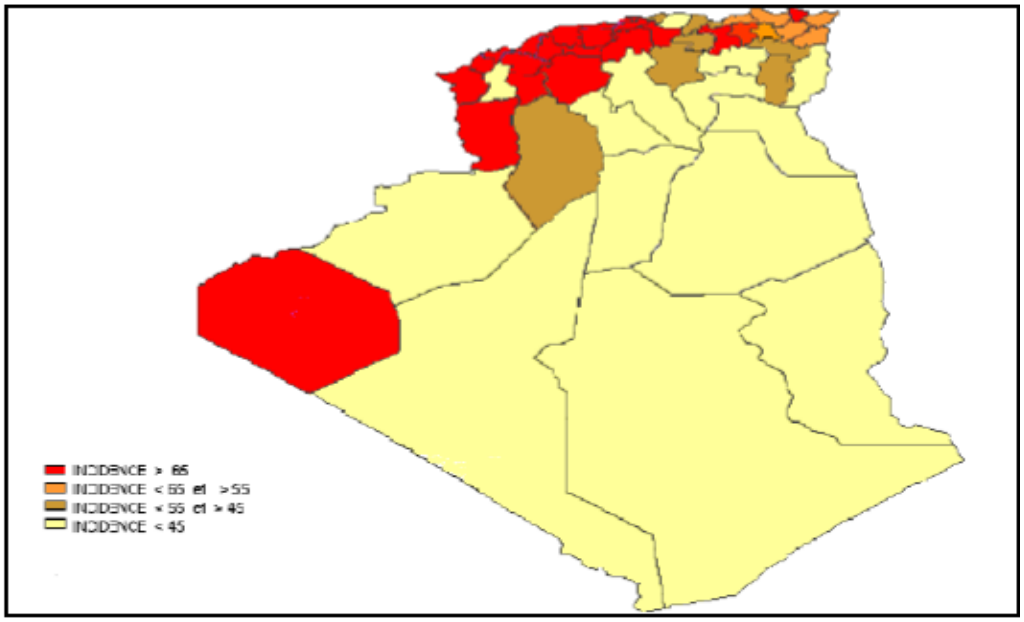

Figure n°3: Incidence de la tuberculose toutes formes confondues en 2009 selon les Wilayas **(Ministère de la sante publique, 2011).**

En général, dans les territoires où la population urbaine est majoritaire, on constate une incidence déclarée plus élevée que celle des territoires où la population rurale est majoritaire.

L'incidence déclarée est plus élevée dans la région Ouest du pays que dans les autres régions **(Ministère de la sante publique, 2011).**

II.2.1 Facteurs sociaux et comportementaux

La plupart des facteurs sociaux influençant l'épidémiologie de la tuberculose sont associés à la pauvreté. 95% des cas et 98% des décès dus à la tuberculose se concentrent dans des pays en développement. Les environnements surpeuplés, tels que les prisons et les foyers sociaux, facilitent grandement la transmission de la maladie **(Lin *et al.*, 2007)**. La

malnutrition, l'alcoolisme et le tabagisme sont aussi des facteurs de risque favorisant le développement d'une tuberculose active **(Rehm *et al.*, 2009)**. Enfin, les difficultés d'accéder aux services de soins dans ces pays compliquent le contrôle de la maladie **(OMS, 2011b).**

II.2.2. Facteurs physiologiques et génétiques

Au niveau mondial, il y a deux fois plus d'hommes adultes atteints de tuberculose que de femmes. Cette disparité aurait des origines hormonales, génétiques et métaboliques **(Neyrolles et *al.*, 2009)**. L'épidémie de tuberculose est également variable en fonction de l'âge. A l'échelle mondiale, 75 % des cas sont des adultes ayant entre 15 et 59 ans **(OMS, 2011a)**, et la forte incidence de la maladie chez les jeunes enfants semble liée à l'immaturité de leur système immunitaire. Des facteurs génétiques semblent également être impliqués dans la sensibilité à la tuberculose. **(Baker *et al.*, 2011)**.

II.2.3. Facteurs liés à une immunosuppression

La coïnfection avec le VIH est le facteur le plus influent de l'épidémie de tuberculose. La suppression du système immunitaire causée par le VIH augmente le risque de réactivation d'une infection tuberculeuse latente et favorise la progression rapide vers une tuberculose active **(Aaron *et al.*, 2004)**. D'après l'OMS, le risque de développer une tuberculose est 27 à 30 fois plus élevé chez les personnes infectées par le VIH que chez les individus séronégatifs **(OMS, 2011)**.

II.3. Les symptômes clinique

- Les symptômes sont peu spécifiques : toux chronique, expectorations parfois teintées de sang, hémoptysie franche, douleurs thoraciques, sudations nocturnes, fièvre, amaigrissement, fatigue…
- Il est difficile de faire le diagnostic différentiel avec d'autres pathologies en se basant uniquement sur ces symptômes. D'autres examens sont nécessaires dont, en première instance, la radiographie du thorax.
- Toutefois le diagnostic de tuberculose doit absolument être évoqué si ces symptômes apparaissent ou persistent chez un sujet ≪a risque≫**(JP Van Vooren et al.,2004).**

II.4.Transmission

L'infection tuberculeuse a un réservoir quasi exclusivement humain. Elle se transmet par voie aérienne directe, principalement interhumaine, par la dispersion de gouttelettes de salive et de sécrétions bronchiques aérosolisées. Ces sécrétions sont produites en particulier par la toux des personnes infectées (Figure n°4) **(Vincent *et al.*, 2002).**

Ces bacilles, une fois inhalés, vont se loger au niveau des alvéoles pulmonaires et créer la lésion initiale **(Faves *et al.*, 1973).**

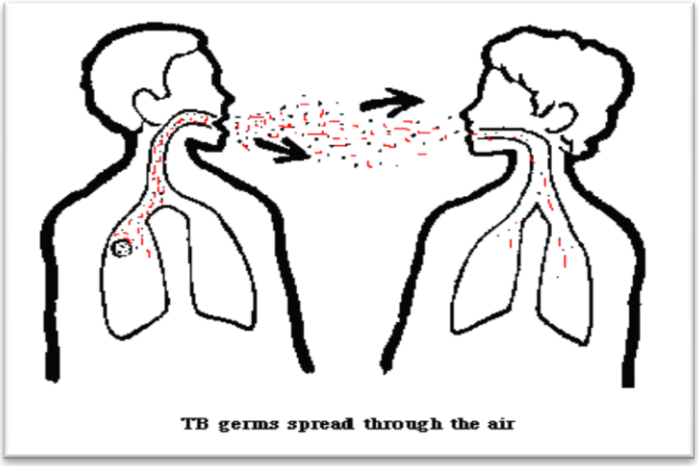

Figure n°4: Transmission interhumaine des mycobactéries **(Nguyen *et al.*, 2006).**

II.5.Diagnostic

Le diagnostic de la tuberculose repose sur la mise en évidence des mycobactéries. La mise en évidence peut être directe, par examen microscopique et culture ou indirecte, par la détection de la présence d'ADN ou d'ARN mycobacterien (techniques d'amplification). **(Zellweger, 2007).**

II.5.1-Diagnostic bactériologique

- **Examen des frottis d'expectoration**: la preuve d'une tuberculose pulmonaire ne peut être apportée que par l'examen bactériologique de l'expectoration pour tout malade suspect de tuberculose **(David *et al.*, 1986).**
- **Le recueil des prélèvements** : le recueil se fait au laboratoire ou dans les services cliniques. On utilise pour cela des crachoirs qui ont une large ouverture, fermant hermétiquement avec un couvercle vissé afin d'éviter la dessiccation et les risques de contamination du personnel par fuite du contenu. Trois échantillons de crachats doivent être demandés pour chaque personne suspecte de tuberculose pulmonaire :
  - Un échantillon est recueilli sur place le jour de la consultation.
  - un deuxième échantillon est recueilli le matin au réveil.
  - un troisième échantillon est recueilli sur place au moment ou le crachat matinal est apporté par le malade au laboratoire.
- lorsque le malade tousse, les crachats doivent être recueillis en plein air, et le plus loin possible d'autres personnes. Si le recueil n'est pas possible à l'extérieur, il vaut mieux utiliser une pièce isolée, aérée, et ensoleillée.

- contrôler la qualité et la quantité de crachats émis : pour le dépistage il faut obtenir un volume suffisant (3-5ml) de crachats contenant des particules solides ou purulentes et pas seulement de la salive.
- Fermer le crachoir de façon étanche et le mettre dans la boite réservée au transport s'il doit être envoyé au laboratoire.
- Se laver les mains à l'eau et au savon.
- Donner au malade un crachoir neuf en lui expliquant de recueillir le crachat le matin au réveil comme il convient de le faire et de le porter au laboratoire le plus tôt possible.

II.5.2-Diagnostic direct: L'examen direct est la technique ayant le meilleur rapport coût/efficacité en milieu tropical.

- **Méthode de coloration de Ziehl-Neelsen**

Le bacille est coloré en rouge par la fuchsine et cette coloration résiste à l'acide et à l'alcool, d'où le nom de Bacille Acido –Alcoolo- Résistant ou BAAR.

A l'examen au microscope optique du frottis coloré, les bacilles tuberculeux apparaissent comme de fins bâtonnets rouges légèrement incurvés, plus ou moins granuleux, isolés par paire ou en amas, se détachant nettement du fond bleu de la préparation

La culture est beaucoup plus sensible que l'examen microscopique des crachats et permet l'identification de la mycobactérie isolée. Il peut s'écouler 4 à 8 semaines avant l'obtention du résultat **(Fatoumata Sidibe, 2009).**

Comme la microscopie, la culture permet de confirmer le diagnostic de la tuberculose. Après humidification, décontamination et centrifugation, les échantillons sont ensemencés sur des milieux spécifiques. Le milieu solide a l'œuf de Lowenstein -Jensen est le milieu de culture le plus couramment employé en raison de sa grande sensibilité, de son faible prix de revient et de l'aspect typique qu'y prennent les colonies de *M. tuberculosis* **(Grosset *et al.*, 1990).**

II.7.3-Diagnostic indirect

- **L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR)**

L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) permet de mettre en évidence une réaction d'hypersensibilité retardée se traduisant par l'apparition 24 à 72 h après une injection intradermique d'antigènes mycobactériens. L'infiltration des antigènes mycobactériens

localisée de la peau est le témoin de l'acquisition d'une immunité spécifique contre les mycobactéries **(Meyssonier, 2012).**

- **Hybridation avec les sondes à ADN**

Elle est réalisée à partir des milieux solides ou liquides permettant d'identifier en quelques heures les bacilles de la tuberculose isolés en culture **(Bodonirina, 2012).** Cette méthode repose sur des technique d'hybridation a l'aide de sondes spécifiques **(Martinez *et al.*, 2005).**

- **Amplification génique**

Elle permet de déceler en 24 heures la présence de *Mycobacterium tuberculosis* dans les prélèvements d'origine pulmonaire ou extra-pulmonaire en amplifiant des séquences génomiques spécifiques. Cette méthode a la potentialité d'identifier spécifiquement les bacilles en quelques heures, directement dans les échantillons cliniques sans que le préalable d'une culture bactérienne soit nécessaire **(Bodonirina, 2012).**

II.8.Traitement de la tuberculose pulmonaire

- **Action curatif**

Le traitement antituberculeux est divisé en deux phases. La phase initiale ou intensive, d'une durée de 2 mois, durant laquelle les médicaments doivent être pris quotidiennement, vise à détruire les populations de *M. tuberculosis* qui se reproduisent rapidement et à prévenir la survenue d'une résistance médicamenteuse. La phase de continuation, généralement d'une durée de quatre 4 à 7 mois, vise à éliminer les populations qui se répliquent lentement et à prévenir une rechute subséquente Tous les médicaments antituberculeux peuvent être associés à une éruption cutanée, des nausées et de la fièvre. De façon générale, plus le régime thérapeutique comprend de médicaments, plus les effets indésirables sont fréquents. Quelquefois, les médicaments peuvent agir de façon synergique **(Paul Rivest *et al.*, 2017).**

- **Action préventif**

La vaccination (le bilié de Calmette et Guérin): le BCG est une souche mycobactérienne qui a perdu sa virulence après avoir subi plus de 200 repiquages successifs. Il peut être administré dès la naissance et, si la souche survit chez le patient, une seule dose est suffisante pour une protection à long terme. Ainsi, il reste encore à l'heure actuelle l'un des vaccins les plus utilisés dans le monde **(Barreto *et al.*, 2006; Locht, 2010).**

Chapitre II

Matériel et Methodes

I. Cadre de l'étude et Objectif de l'étude

Nous avons réalisé notre stage au niveau du laboratoire de biologie médicale SAYEH, à Bouira. Notre stage a été effectué durant une période de deux moins.

Les objectifs de ce travail portent sur le :

- ✓ Suivre de diagnostic de la tuberculose pulmonaire par bacilloscopie et culture.
- ✓ Etude des facteurs de risques associe aux différents formes de la tuberculose pulmonaire.

II. Prélèvements

- **Crachats ou expectorations**

Il s'agit de recueillir les crachats émis spontanément après un effort de toux profond, de préférence le matin au réveil, dans des flacons stériles, à fermeture étanche et à large ouverture afin d'éviter les contaminations des bords extérieurs, porté une étiquette avec le nom et le prénom de malade.

Trois échantillons par malade, à un jour d'intervalle, ont été utilisés pour le dépistage. Le 1er échantillon a été recueilli sous la supervision de l'équipe du laboratoire le jour même de la consultation. Les deux autres ont été réalisés par les patients eux-mêmes les deux jours suivants en matinée et remis au centre le même jour.

- **Tubage gastrique**

Les enfants de moins de 12 ans sont habituellement incapables d'expectorer volontairement, c'est pourquoi des tubages gastriques pour le recueil des sécrétions bronchiques dégluties durant la nuit sont nécessaires.

- **Prélèvements réalisées sous fibroscopie**

Par aspiration bronchique, par brossage endo-bronchique, liquide de lavage broncho-alvéolaire.

Dans les cas de susception de tuberculose extra-pulmonaire, d'autres prélèvements sont réalisés, comme des prélèvements urinaires, liquide pleurale, pus ganglionnaire, liquide d'ascite et broyat de biopsie **(Boulahbal et Yaha, 2010).**

III. Examen microscopique (Bacilloscopie)

Cet examen a pour but la mise en évidence du bacille tuberculeux en microscopie optique, dans un frottis réalisé à partir d'un prélèvement de crachat. Pour ce qui est des autres prélèvements, comme tubage gastrique, aspiration bronchique , sont d'abord centrifugés à 3000 tour/mn pendant 20mn.

III. 1. Réalisation du frottis

➢ **Identification des lames**

- Le frottis se fait obligatoirement sur une lame neuve, préalablement dégraissée et séchée.
- Le numéro attribué au malade sur le registre du laboratoire doit être inscrit à une extrémité de la lame.(figure n°5).
- Préparer ainsi une lame pour chaque échantillon.

Figure n°5 : Image des frottis avec le numéro de chaque échantillon.

III.2. Réalisation du frottis

Il est confectionné en suivant le protocole défini par le programme national de lutte contre la tuberculose.

A l'aide d'une anse de platine, une parcelle purulente de crachat est prélevée sous la hotte microbiologique, puis étalée par un mouvement continu de rotation sur une longueur de 2 cm et une largeur de 1cm en commençant par le milieu de la lame.

La lame est placée sur le porte-lame, frottis tourné vers le haut et séchées à l'air ambiant environ 30mn. Puis le frottis est fixé par 3 passages au-dessus d'une flamme du bec benzène pendant 4 secondes.

III.3. Coloration par la technique de ZIEHL NEELSEN

Le principe de cette coloration est basé sur l'utilisation des propriétés pariétales spécifiques de la paroi de *Mycobactérium tuberculosis,* qui retient la coloration par la fuchsine malgré l'action combinée de l'acide et de l'alcool. Les bactéries apparaissent alors comme des bâtonnets rouges sur fond bleu, connues par le nom de bacille acido-alcoolo résistants (BAAR).

La technique de référence pour colorer ces mycobactéries est la méthode de Ziehl-Nielsen, utilisant la fuchsine phéniquée à chaud, suivie d'une décoloration par une solution d'acide et d'alcool mélangé, et d'une contre coloration au bleu de méthylène **(Guide technique pour le personnel de santé).**

L'examen direct des prélèvements en microscopie après coloration de Ziehl-Neelsen permet la découverte de BAAR dans la moitié des cas environ. Cet examen peu coûteux et rapide permet une approximation quantitative du nombre de germes excrétés (en nombre de BAAR par champ). C'est peut être le seul moyen de diagnostic dans les pays en voie de développement **(Cornfield *et al.*,1997).**

➢ **Coloration**

La lame du frottis, tournée vers le haut, est placée sur une barre métallique, au dessus de l'évier. Le frottis est recouvert par une solution de fuchsine phénique filtrée phéniquée à l'aide d'une seringue (Figure n°6).

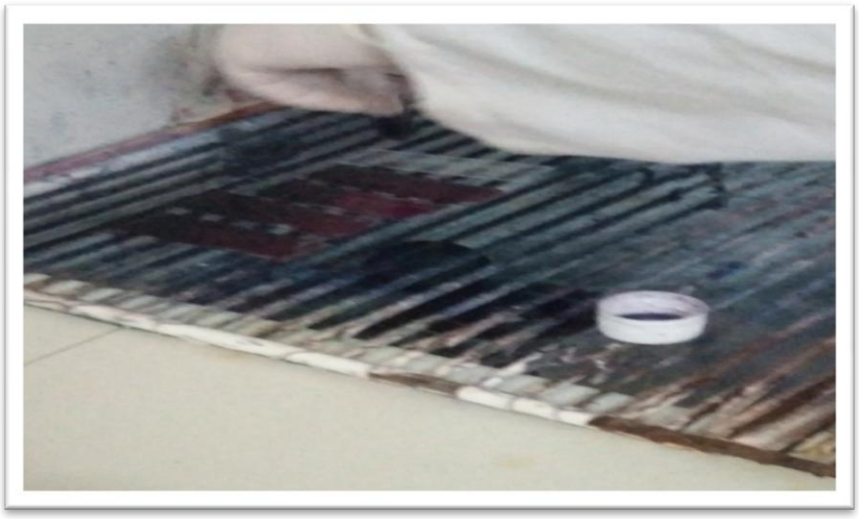

Figure n°6: Image de coloration des lames par la fuchsine.

La lame est chauffée, par passage au dessous d'une flamme à l'aide d'un tampon d'ouate imbibé d'alcool, jusqu'à émission de vapeurs, sans aller jusqu'à l'ébullition (Figure n°7).

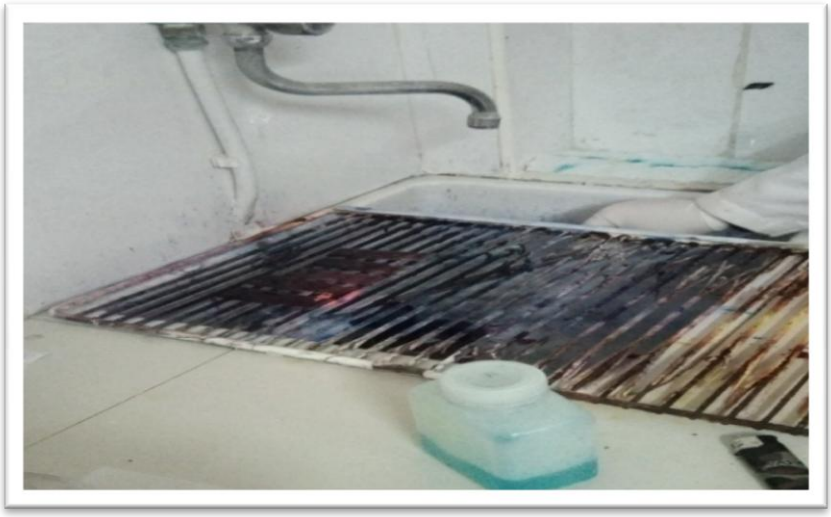

Figure n°7: Chauffage des lames.

Avec une solution de fuchsine, la lame est recouverte et préchauffée comme précédemment pendant 3 mn, toute en répétant ce chauffage deux fois toutes les 3 mn. Apres, l'excès de fuchsine est éliminé par rinçage à l'eau abondante (Figure n°8).

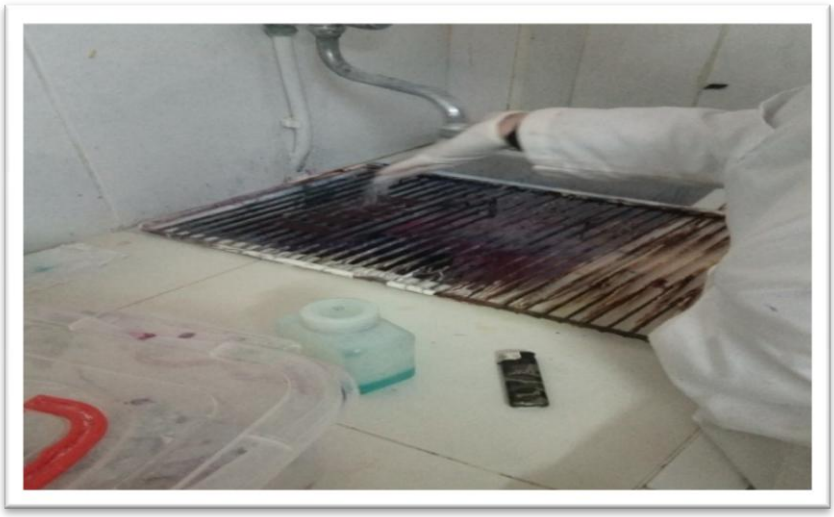

Figure n° 8: Rinçage des lames.

- **Décoloration**

En suite, le frottis est décoloré à l'acide sulfurique dilué aux ¼, et laissé pendant 3 minutes. Puis rincé à l'eau abondante (Figure n°9).

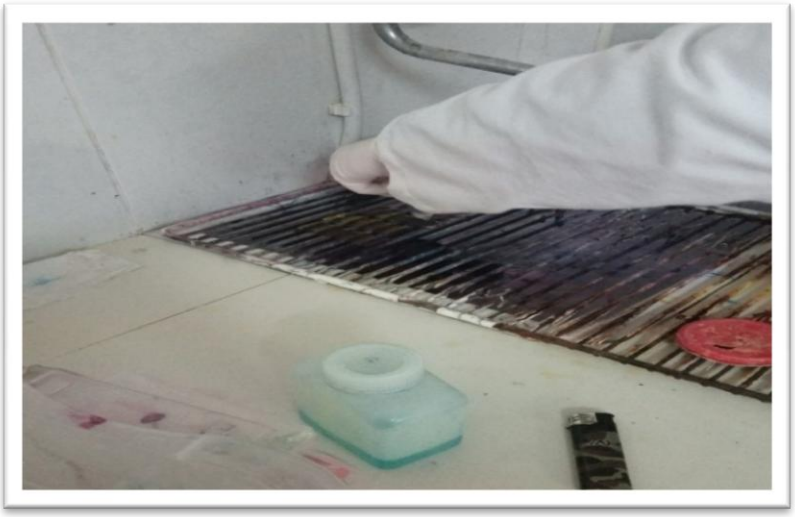

Figure n°9: Additionnement de l'acide sulfurique.

Une autre étape de décoloration est réalisée à l'aide de l'alcool à 90° pendant 5 minutes, puis le frottis est rincé (Figure n°10).

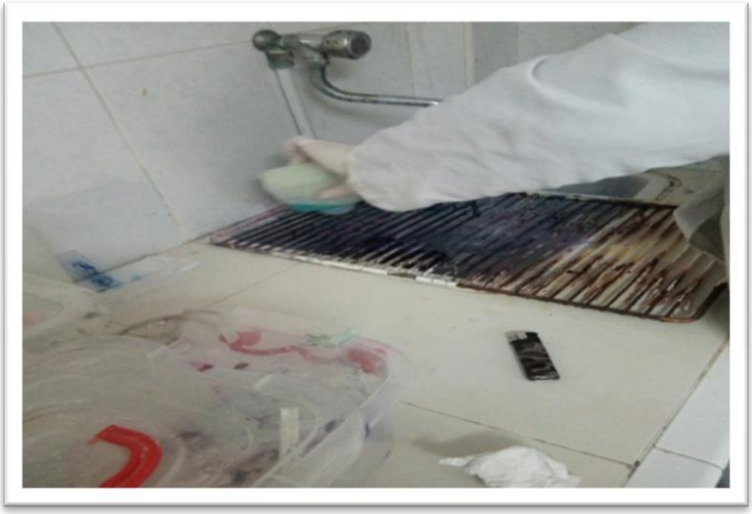

Figure n°10: Additionnement de l'alcool.

- **Contre-coloration**

Une contre-coloration par la solution de bleu de méthylène est effectuée sur le frottis pendant 3 minute, puis rincé à l'eau distillée (Figure n°11).

Figure n°11: Additionnement de bleu de méthylène.

Puis laisser le frottis pour séchage à l'air ambiant (Figure n°12).

Figure n°12: Séchage des lames à l'air libre.

III.4. Observation microscopique et lecture du frottis

Les lames sont observées au microscope à l'objectif à immersion (X100). Après la mise au point, la lame est examinée champ par champ suivant sa longueur, de gauche à droite. BAAR sont comptés sur 20 à 300 champs microscopiques selon la richesse du frottis, avant de déclarer la négativité d'une lame (examen pendant 15 minutes environ). La lecture de la lame se fait en créneau.

Les BAAR apparaissent rouge vif ou en rose sur un fond contre-coloré en bleu. Ils sont droits ou légèrement incurvés . Ils se présentent comme de fins bâtonnets, isolés ou groupés en amas et se détachant nettement du fond bleu de la préparation.

L'interprétation des résultats est donnée en fonction du nombre de BAAR observés, selon les recommandations du programme national de lutte contre la tuberculose, comme le montre le tableau ci –dessous.

Tableau II: Tableau représentatif des résultats de la Bacilloscopie. **(David *et al.*, 1986).**

Nombre de BAAR observés par nombre de champs microscopiques	**Résultats**	**Interprétations**
0 Bacilles /300champs	Négatif	Frottis négatif
1à 9 Bacilles/300 champs	Noter le nombre exacte	Frottis douteux
10 à 99 Bacilles / 100 champs	+	Frottis positif
1 à 10 Bacilles /champs	++	Frottis positif
> à 10 Bacilles /champs	+++	Frottis positif

IV. Culture sur gélose Lwenstein-Jensen

La culture est beaucoup plus sensible que l'examen microscopique et permet l'identification de la mycobactérie isolée, ainsi que la mesure de la sensibilité aux antibiotiques.

Le milieu solide à l'oeuf de Löwenstein-Jensen est le milieu le plus couramment employé. Lors de la culture, les colonies du *Mycobactérium tuberculosis* s'y développent en moyenne en 21 à 28 jours. Dès l'apparition des colonies constituées, après vérification microscopique de BAAR, les cultures sont déclarées positives. Les colonies sont exprimées quantitativement en nombre de colonies par tube**.(Thiber,1987).**

Vue le caractère polymicrobien des prélèvements, qui proviennent généralement de cavités ouvertes, une étape de décontamination est indispensable pour la mise en culture à partir d'échantillons de crachats, tubage gastrique, urines, abcès…etc. Les prélèvements non contaminés, tels que le liquide céphalorachidien, liquide d'exsudats, pus ganglionnaires…etc.,

sont ensemencés directement à la pipette pasteur, éventuellement dilués dans de l'eau distillée (**Grosset et al.1990).**

La décontamination des produits pathologique est obtenue par divers procédés, la plus couramment utilisée est basée sur l'emploie de la soude et d'un neutralisant. Pour cela, on procède comme suit :

- 2 ml de crachats sont transférés (ou autre prélèvement polymicrobien) dans un tube à centrifugé stérile et bouché à vis.

- Puis, un volume de 2 ml de NaOH à 4% ainsi que 3 gouttes de bleu de Bromothymol à 0,2% sont ajoutés au tube précédent.

- Le mélange est agité, pendant 15 minutes dans un agitateur puis porté 30 minutes à l'étuve.

- Une centrifugation à 300 tour/min pendant 15-20 min est réalisée, et le culot est récupéré à l'aide d'une pipette Pasteur.

- 3 à 4 tubes de gélose de Lowenstein-Jensen sont ensemencés avec une pipette Pasteur en stries à partir du culot récupéré. Les tubes sont en suite incubés à 37°C, les bouchons légèrement fermés.

- Au bout de 48 heures, les tubes sont contrôlés et complètement fermés, puis examinés une fois par semaine. Généralement les colonies commencent à apparaitre après 18 à 21 jours d'incubation, elles sont de couleur crème beige, sèches, à surface rugueuse, en forme chou-fleur, mais il faut laisser la culture jusqu'aux 72 ème jours.

Chapitre III

Résultats et discussion

Au cours de notre stage réalisé au niveau du laboratoire des analyses médicales Dr SAYEH de Bouira et qui a été effectué durant la période allant d'avril jusqu'à mai 2018, tous les patients admis pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire, ont été inclus dans l'étude.

Parmi les objectifs fixés dans ce travail, en premier lieu, suivre le diagnostic de la tuberculose pulmonaire par bacilloscopie et culture. L'étude des facteurs de risque associés aux différentes formes de la tuberculose pulmonaire a été également abordée chez les patients suivis.

Le registre du laboratoire comporte : le nom du malade, l'âge, le sexe et le résultat de la bacilloscopie. Il donne également les informations suivantes :

- Nombre de sujets suspects examinés.
- Nombre d'examens positif lors du dépistage.

I. Diagnostic de la tuberculose pulmonaire

I. 1- par bacilloscopie

Sur un total de 260 patients diagnostiqués, 145 cas étaient de sexe masculin et 101 de sexe féminin. L'âge de ces patients varie de 4 ans à 81 ans, dont 14 enfants de moins de 16 ans.

Tableau III : Les échantillons examinés par bacilloscopie (étude des crachats).

Prélèvements	**Bacilloscopie**		**Totale**
	Positif	**Négatif**	
Homme	80	65	145
Femme	42	59	101
Enfants	05	09	14
Totale	127	133	260
	260		

I. 2- par culture

Sur un total de 56 patients diagnostiqués, 25 cas étaient de sexe masculin, et 26 de sexe féminin, dont 05 enfants de moins de 16 ans.

Les patients inclus proviennent de différentes structures sanitaires, ont été adressés au laboratoire de Dr SAYEH par différents centres de soins externes et médecins privés. Le tableau suivant regroupe l'ensemble des cas testés par culture pendant 2 mois au niveau du laboratoire des analyses médicales Dr SAYAH.

Tableau IV : Les échantillons examinés par culture.

Prélèvements	**Culture**		**Totale**
	Positif	**Négatif**	
Homme	04	21	25
Femme	02	24	26
Enfants	01	04	05
Totale	07	49	56
	56		

II .Résultats d'examen microscopique

II .1-par bacilloscopie

Au total, 127 des patients inclus ont été diagnostiqués positifs pour la tuberculose pulmonaire proviennent des résultats de la Bacilloscopie en fonction du nombre de BAAR observés, ce qui donne un taux de 48.84 %. La répartition des résultats est donnée dans le figure suivante.

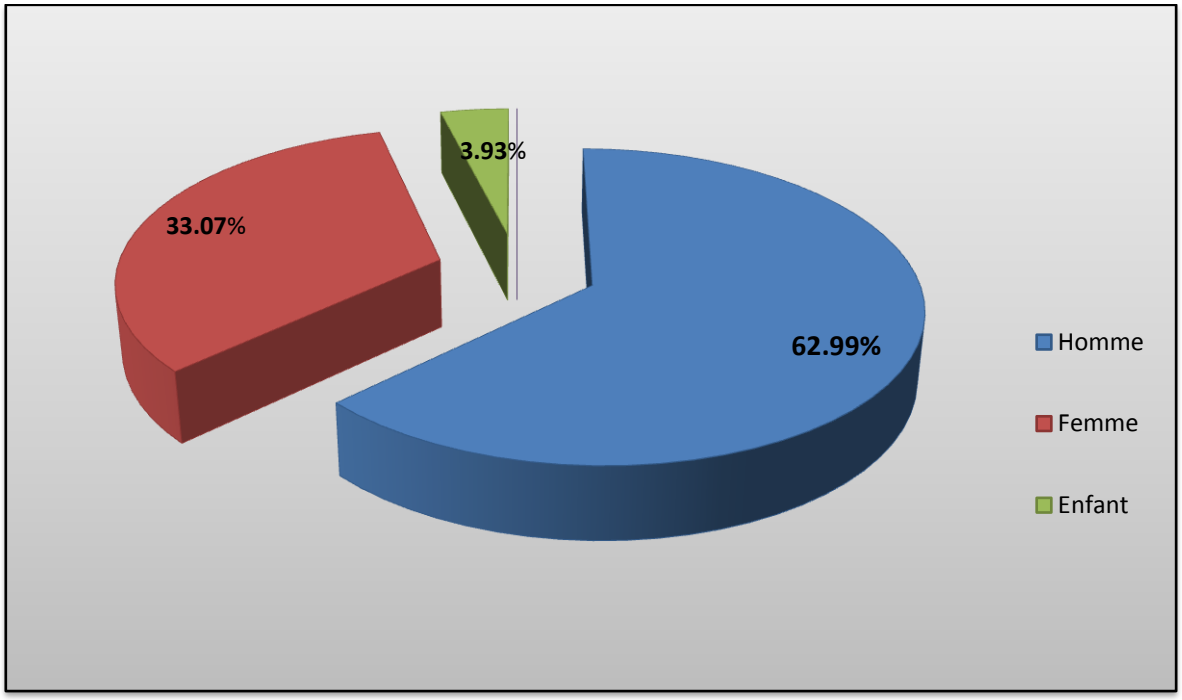

Figure n°13 : Tuberculose pulmonaire a frottis positif par Bacilloscopie.

II .2.Résultats de la recherche du Mycobactéries par culture

Sur 56 prélèvements a Bacilloscopie négatives, 07 cas ont abouti à une culture positive sur gélose Lowenstein-Jensen, ce qui donne un taux de 12.5%, et la figure ci dessous représente la répartition des résultats.

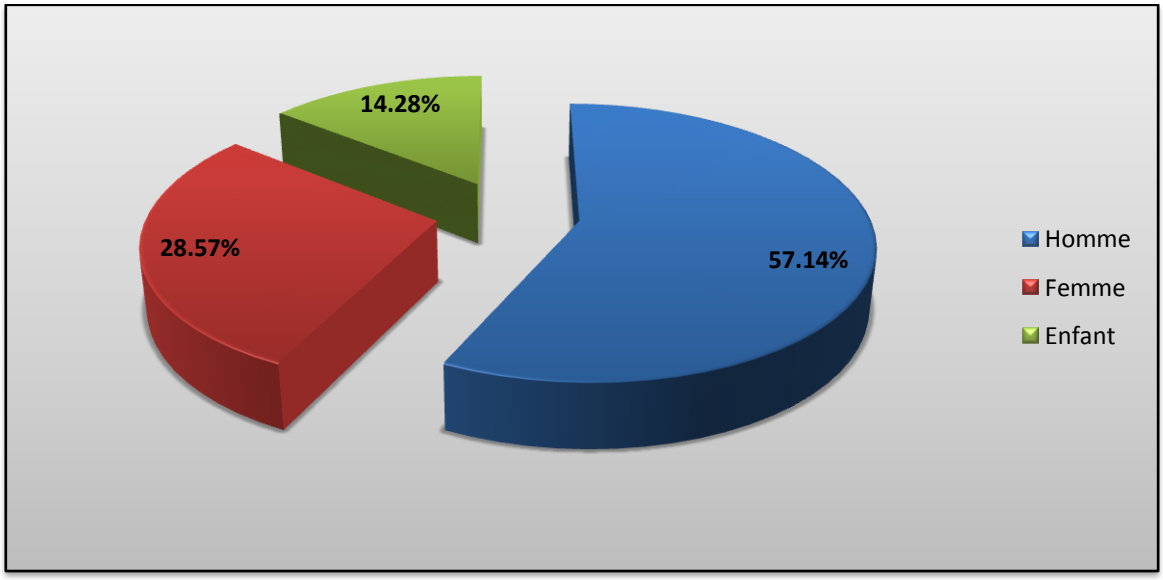

Figure n°14 : Tuberculose pulmonaire a frottis positif par culture.

III. Répartition des tuberculeux selon l'unité de santé

III.1.Répartition des tuberculeux selon le sexe

Sur un total de 127 patients diagnostiqués positif, 80 cas étaient de sexe masculin, et 42 de sexe féminin. Le sexe masculin représente 62.99 % des cas et le sexe féminin présent 33.07 % avec une sex-ratio de 1.90.

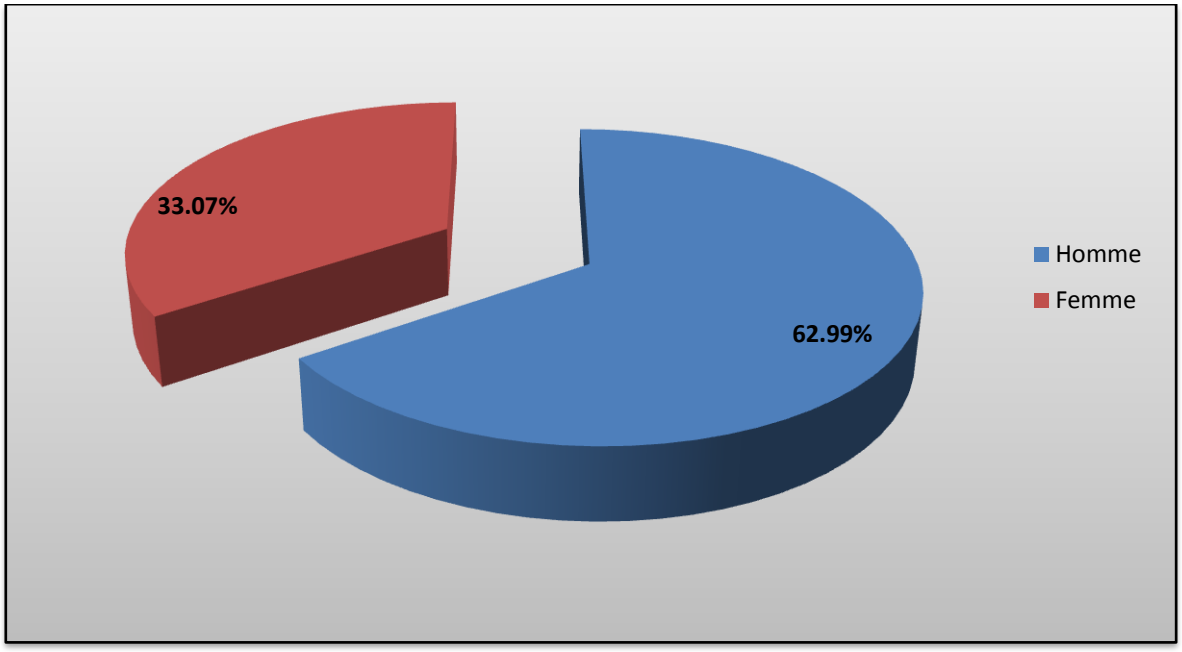

Figure n°15 : Répartition des patients à BAAR positif selon le sexe.

III.2. Répartition des tuberculeux selon l'âge des patients :

Au total, 127 des patients inclus ont été diagnostiqués positifs pour la tuberculose pulmonaire, la répartition des malades selon l'âge est donnée dans le tableau suivant.

Tableau V: Répartition des malades selon l'âge.

Age (ans)	Effectif	Pourcentage(%)
Moins de 20	10	7.87
21-45	50	39.37
45-60	39	30.71
60 et plus	28	22.05
TOTALE	127	100

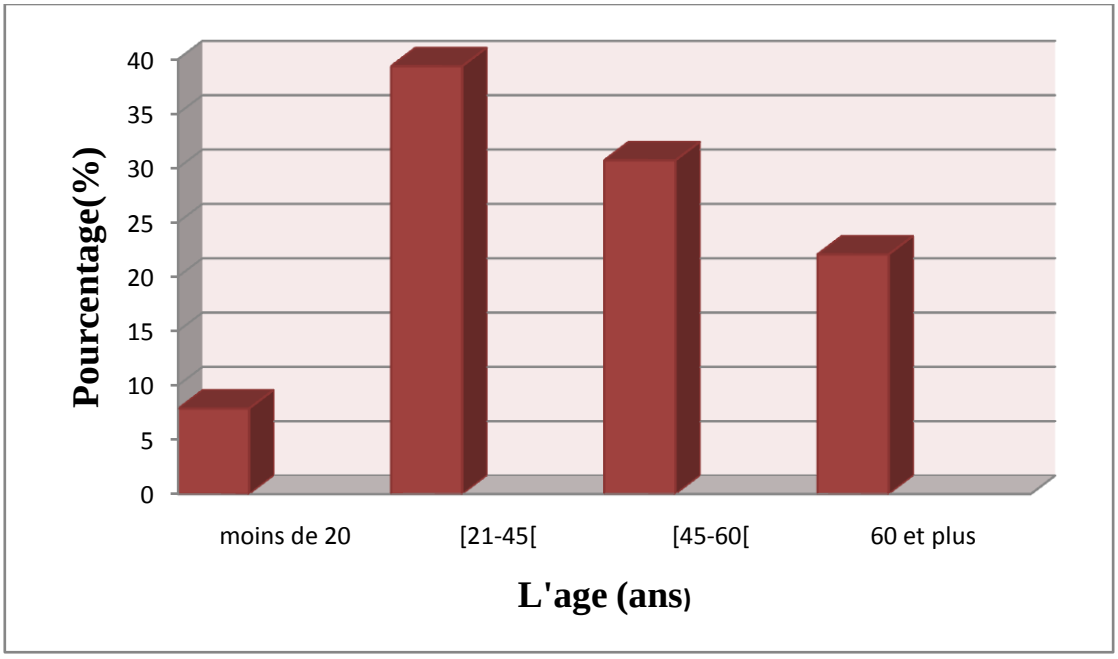

Figure n°16 : Répartition des malades selon l'âge.

III.3.Répartition des tuberculeux en fonction des maladies associées

Sur un total de 127 patients diagnostiqués positif, Le nombre des patients suivis sans maladies associées est de 40, ce chiffre reflète un taux de 31.49%,

Parmi les 87 patients avec maladies associées, les diabétiques représentent environ 40 .15%. Les maladies du dialyse péritonéale représentent 11.02%, l'hépatite B représentent 3.93% et l'anémié représentent 13 .38% des cas. La répartition de ces maladies est donnée dans la figure suivante.

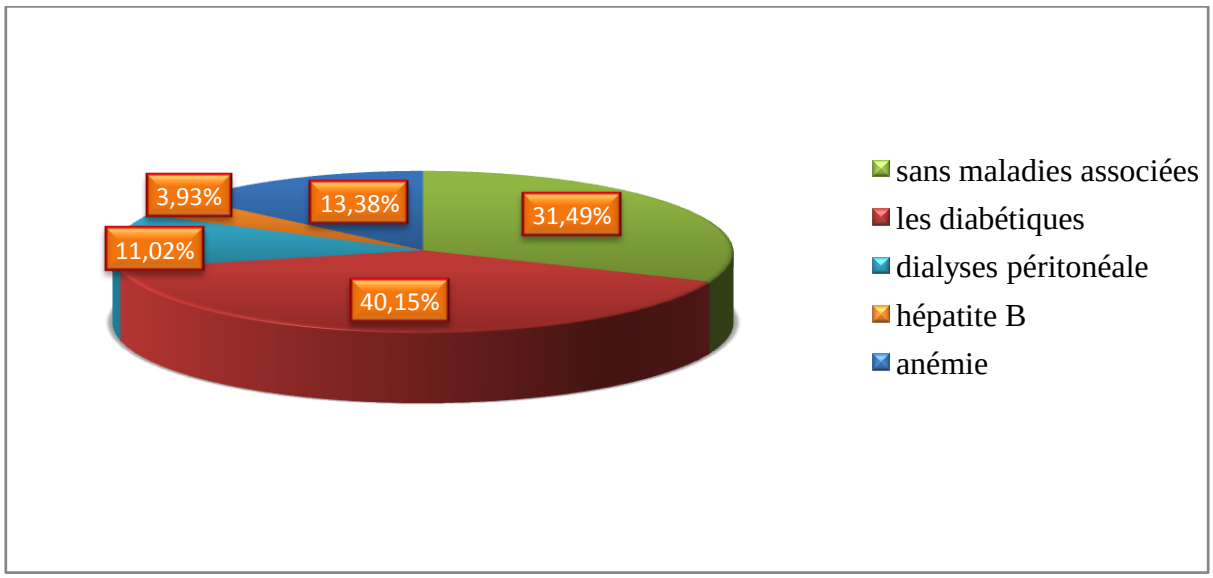

Figure n°17 : Répartition des tuberculeux en fonction de maladies associées.

Discussion générale

Au cours de cette étude, **134** cas étaient diagnostiqués positifs pour la tuberculose pulmonaire, ce qui donne un taux de **51,53%.** Sur ce total ,**127** proviennent des résultats de la Bacilloscopie en fonction du nombre de BAAR observés avec un taux de **48.84%** , et **07** proviennent des résultats de la recherche des mycobactéries par culture sur gélose Lowenstein- Jensen après avoir fait une culture sur **56** prélèvements négatives, avec un taux de **12.5%**.

En Algérie, la tuberculose demeure encore l'un des problèmes majeurs de santé publique, avec 50 à 99 cas d'infection, toutes formes confondues, sur 100 000 habitants. Mais son incidence est moins importante comparant aux autres pays du Maghreb, tel que le Maroc avec 150 à 299 cas sur 100 000 habitants ; où des taux élevés d'infection par le bacille de

koch ont été rapportés **(Barchiche et *al.*, 2010 ; Ajmi et *al.*, 2010 ; PNLCT, 2011; Ilboudou, 2013).**

Le résultat obtenu dans cette étude démontre, l'importance et la nécessité du diagnostic par bacilloscopie et dans la détermination de la contamination de l'échantillon par *M. tuberculosis* et nous n'a pas besoin des tests complémentaire comme culture pour confirmer si le prélèvement est positif ou pas. Comme déclaré par Mitchison « l'examen de frottis de plusieurs échantillons pour chaque patient est presque aussi efficient que les examens par culture dans les polycliniques des pays en développement » (**Affolabi et *al.*, 2011)**.

Les résultats illustrés dans la figure N°15 montrent une prédominance dans la population de sexe masculin avec un pourcentage de **(62.99%)** contre **(33.07%)** pour le sexe féminin avec un sexe ratio (M/F) de 1.90 ce qui confirme avec les résultats d'autres travaux, comme ceux de **(Rouillon et *al*., 1996; Murray et *al*., 1990; Rieder et *al*., 1990; Weiss et *al.*, 2008; Neyrolles and Quintana-Murci, 2009).** Dans les études d'**Antoine et *al.*(2007)** et **Kolappan et *al.*(2006),** 60% des cas déclarés de tuberculose ont été enregistrés chez le sexe masculin.

Trois hypothèses pourraient expliquer cette prédominance masculine :

- les comportements à risque sont beaucoup plus fréquents chez l'homme (tabagisme, alcoolisme).
- Les travaux physiques intenses malgré l'insuffisance alimentaire.
- une forte incidence en milieu carcéral constitue un facteur important dans la mesure où la plupart des détenus sont des hommes (**Holmes et *al.*, 1998 ; Benhabyles et *al.*,2006; Thorson, 2007 ; Adnaoui et *al.*, 2009 ; Touré et *al.*, 2010 ; Abdallah et *al.*, 2011)**.

La tranche d'âge de 21-45 ans était la plus représentée avec 39,37% des cas . Ces résultats concordent avec ceux d'autres études, telle que l'étude de **Kolappan et *al.*(2006)** en Inde où 68% des cas sont des adultes jeunes.

Selon **Dominique L.(2007),** dans son article portant sur la résistance de *Mycobacterium tuberculosis*, la tuberculose touche en priorité 75% des patients dont l'âge est compris entre 15-45ans. Ce constat est lié à une forte activité chez ces patients

(fonctionnaires, étudiants…..etc.), entrainant un contact plus fréquent avec des cas de tuberculeux. Nos résultats concordent avec les travaux de plusieurs auteurs, qui ont rapporté des proportions élevées de tuberculeux dans cette catégorie de population **(Amrane et *al.*, 1993 ; Gagniére et *al.*, 2011 ; Che et *al.*,2011)**.

Chez les patients âgés de 60 ans ou plus, 22.05% ont été diagnostiqués positifs. Ces sujets représentent un groupe vulnérable et à risque à toutes les infections. Ce qui est dû d'une part à l'âge avancé et d'autre part aux facteurs de comorbidités, qui s'expliquent par l'affaiblissement du système immunitaire et les différentes maladies chronique associées. Ces résultats sont compatibles avec ceux d'autres auteurs qui confirment que le risque d'infection augmente avec l'âge (**Yacoub et *al.*, 2009 ; Fettal et *al.*, 2009 ;Touré et *al.*, 2010)**.

En général, la présence d'une affection associée, favorisant le développement d'une tuberculose active est responsable de la réduction du taux de guérison, et cause une augmentation du taux de décès et du risque de rechute. C'est le cas chez les patients atteints de diabète **(Baker *et al.*, 2011)**.

Kim et *al.* 2008 ont montrés que l'affaiblissement local ou systémique du système immunitaire causé par le cancer et par les chimiothérapies anticancéreuses augmente également le risque de développer une tuberculose.

Les résultat obtenus sont accord avec ceux rapporter dans les travaux de **Zumla et *al.*(2013)** qui ont montrés que les formes d'immunodépression, malnutrition, diabète sucré sont des facteurs favorisants le développement d'une tuberculose.

Conclusion

La tuberculose est une maladie contagieuse, inoculable et curable due à une mycobactérie (*Mycobactérium tuberculosis*) ou bacille de koch. Elle demeure un problème de santé dans le monde, surtout avec l'apparition de l'infection au VIH/SIDA.

Malgré l'existence d'un programme de lutte antituberculeuse, la tuberculose constitue encore un sérieux problème de santé publique courant dans les pays en voie de développement et notamment en Algérie.

Après l'examen des crachats, les résultats montrent une prédominance masculine de 62,99%. Cette prédominance masculine est due à la pauvreté de la plupart des gens, à l'alcoolo-tabagisme qui diminue l'état immunitaire, au mauvais suivi des traitements, aux travaux physiques intenses et surtout à la forte incidence en milieu carcéral constituant un facteur important dans la mesure où la plupart des détenus sont des hommes.

Au cours de cette étude au niveau du laboratoire de biologie médicale SAYEH de Bouira, sur les 127 des patients, nous avons 87 des patients suivis a une ou plusieurs maladies associées, par contre 40 cas qui ne présente aucune pathologie. Parmi les 87 patients soufrant de ces maladies, les diabétiques représentent environ 40.15%. Les maladies du dialyse péritonéale représente 11.02%, l'hépatite B représente 3.93% et l'anémié représente 13 .38% des cas, le diabète reste un facteur de risque important dans le développement d'une tuberculose active comme nous l'avons constaté dans cette étude.

En conclusion, il est impératif de renforcer le programme antituberculeux et la stratégie du Traitement Court Directement Observé (DOTS) pour baisser de façon significative l'incidence de la tuberculose. Une collaboration multisectorielle est nécessaire pour que la lutte contre cette maladie soit efficace.

Cependant, une suite de ces travaux est indispensable afin d'avoir une idée complète et généralisée sur cette maladie. Elle passe par l'inclusion d'un plus grand nombre de patients à diagnostiquer, pour pouvoir estimer l'incidence de la tuberculose dans cette région, étudier plusieurs facteurs épidémiologiques et démographiques, et suivre l'influence des patients atteints sur leurs entourages.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

A

1-Aaron L, Saadoun D, Calatroni I, Launay O, Memain N, Vincent V, Marchal G, Dupont B, Bouchaud O, Valeyre D, Lortholary O. (2004). Tuberculosis in HIV-infected patients: a comprehensive review. Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. **10**, 388-398.

2-Abdallah AM, Bestebroer J, Savage ND, Punder K, van Zon M, Wilson L. (2011). Mycobacterial secretion systems ESX-1 and ESX-5 play distinct roles in host cell death and inflammasome activation. J Immunol. 187:4744-4753; PMID:21957139; http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1101457.

.

3-Adnaoui M, Benfenatki N, Hamzaoui A. (2009). Epidémiologie de la tuberculose dans les pays du Maghreb. La revue de médecine interne. 30 : 265-267.

4-Affolabi D, Akpona R, Odoun M, Alidjinou K, Wachinou P , Anagonou S, Gninafon M, Trébucq A .(2011). Programme National Contre la Tuberculose, Cotonou, Bénin ; Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires, Paris, France.

5-Aît Khaled, N., Enarson, D., Billo, N. (1999). Épidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux. Rev Mal Respir.14: 5S8–5S18.

6-Ajmi Th, Tarmiz H, Bougmiza I, Gataa R, Knani H, Mitraoui A.(2010). Epidimiogical profile of tuberculosis in the region of health Sousse from 1995 to 2005.Revue Tunisienne d'infectiologie .4:18-22.

7-Amrane R, Djilali A, L'Hadj M,Ouartsi Z, Chakoul A. (1993). La morbidité tuberculose de 1982 à 1990 en Algérie. Service de Pneumo-Phtisiologie, Centre Hospitalier et Universitaire de Bab el Oued, Alger ; Direction de la Prévention, Ministère de la Santé et des Affaires Sociales, Alger. 74 :106-112.

8-Anderson, R. J. (1940). The chemistry of lipids of tubercle bacilli. Harvey Lect. 35, 271-313.

9-Antoine D, Che D. (2007). Epidemiology of tuberculosis in France in 2005. Med Mal Infect. 37 : 245-52.

10-**AUBRY P. (2014).** Actualités sur la tuberculose .Bull. Soc. Pathol. Exot., 107, p 127-128.

B

11-Baker MA, Harries AD, Jeon CY, Hart JE, Kapur A, Lonnroth K, Ottmani SE, Goonesekera SD, et Murray MB. (2011). The impact of diabetes on tuberculosis treatment outcomes: a systematic review. BMC medicine. **9**, 81.

12-Barchiche NA, Berkani A, Chernai M, Aitabdeslam S, Meguenni, W. (2010). Aspects de la tuberculose chez l'enfant à propos de 153 cas. Pathologie Biologie. 58 :33-38.

13-Barreto, M. L., Pereira, S. M. and Ferreira, A. A. (2006). "BCG vaccine: efficacy and indications for vaccination and revaccination." J Pediatr (Rio J) 82(3 Suppl): 45-54.)

14-Basset J. (1953): Notions préliminaires. Chapitre premier dans: Immunologie et prophylaxie de la tuberculose. P: 1-3. Vigot frères. Paris, France.

15-Benhabyles N, Boughoufalah A et Hannoun D. (2006). Rapport annuel. Situation épidémiologique de la tuberculose en Algérie année 2005.22.

16-Blood D.C., Henderson J.A. and Radostitis O.M. (1982): Diseases caused by bacteria. IV in: Veterinary medicine. A text book of the disease of cattle, sheep, pigs and horses, Fifth ed. Baillère. Tindall, London

17-BODONIRINA V.P. (2012) Place de l'examen des crachats dans le diagnostic de tuberculose pulmonaire au CSBII Ekar Imady. Thèse de doctorat en médecine, Université d'Antananarivo, N°8359. 127 p**.**

18-Botella H, Peyron P, Levillain F, Poincloux R, Poquet Y, Brandli I et al. (2011). Mycobacterial p(1)-type ATPases mediate resistance to zinc poisoning in human macrophages. Cell Host Microbe. 10:248-59.

19-BOULAHBAL F. et CHAULET P. (2004) La tuberculose en Afrique épidémiologie et mesures de lutte. *Med Trop;* 64 : p 224- 228

20-Boulahbal F, Yaha D. (2010). Manuel de laboratoire, diagnostic de la tuberculose par l'examen microscopique et la culture. Institut Pasteur D'algérie.28.

C

21-Che D, Antoine D. (2011). Épidémiologie de la tuberculose en France en 2008. Médecine et Maladies Infectieuses. 41 :372-378.

22-Cole S.T. and Brosch R. (1998) Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. Nature Vol : 393. p : 537-544

23-CORNFIELD DB, BEAVIS KG, GREENE JA, *et al.* Mycobacterial growth and bacterial contamination in the mycobacteria growth indicator tube and BACTEC 460 culture systems. *J Clin Microbiol.* 1997 Aug;35(8):2068-71

24-Cosivi O., Meslen F.X., Daborne C.J. and Grange J.M. (1995): Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in animals and humans, with particular reference to Africa. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 14: 733-746.

D

25- Daffé, M., C. Lacave, M. A. Laneelle and G. Laneelle (1987). "Structure of the major triglycosyl phenol-phthiocerol of *Mycobacterium tuberculosis* (strain Canetti)." Eur J Biochem 167(1): 155-160.

26-Daffe, M., and Draper, P. (1918). The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. Advances in microbial physiology 39, 131-203.

27-Daffé, M. (1996). Structure de l'enveloppe de *Mycobacterium tuberculosis*. Méd Mal Infect.26 :891-7.

28-David L H, Levi-Frébault V, Thorel MF Méthodes de laboratoire pour mycobactériologie. Paris : Institut Pasteur, 1986 : 1-87.

29-Denis F. Martin C. dans Denis F. ; Ploy M.C. ; Martin C. ; Bingen E. et Quentin R. (2011) Chapitre : Mycobactéries dans Bactériologie médicale. Edition : ElsevierMasson. p: 507-535.

30-Diallo D, Koumaré M, Traore A K, Sanogo R, Coulibaly D. Collaboration entre tradipraticien et médecine conventionnelle : l'expérience Malienne. Observatoire de la santé en Afrique Janvier- Juin 2003; 35p.

31-DIARRA B. Ėtude des connaissances, des attitudes et pratiques comportementales de la population générale de Bamako face à la tuberculose- thèse médcine, 2009-91P. ; 60N°60.

E

32-El khéchine A. ; Couderc C. ;Flaudrops C. ; Raoult D and Drancourt M. (2011) Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of- Flight Mass Spectrometry. Identification of Mycobacteria in Routine Clinical Practice. Plose one, Volume 6, issue 9, e24720. p : 1-7.

F

33-FAVES G. et MAILLARD J. M. tuberculose pulmonaire. La primo-infection – complications précoces de la primo-infection.Encycl. Med. Chir. Paris, Poumon, 11-1973, 6027 A10.

34-Fettal N, Taleb A, Abdelmalek M. **(2009).** La tuberculose pulmonaire chez le sujet âgé : à propos de 17 cas. Revue des Maladies Respiratoires .26.124.

35-FLANDROIS JP. Mycobacterium tuberculosis; bactériologie médicale, Collection AZAY, presse universitaire de Lyon 1997 : 152-157.

G

35-Goas A et Salomon J. (2011). Épidémiologie de la tuberculose en Bretagne: les casdéclarés entre 2000 et 2007. Médecine et Maladies Infectieuses. 41 : 33-37**.**

36-Goodfellow M. and Minnikin D.E. (1984): Circumscription of the genus. p: 1-24 In: G.P. Kubica and L.G. Wayne, eds. The Mycobacteria: a sourcebook, part A. Dekker, New York.

37-GRELLET I. , KRUSE C. Histoires de la tuberculose : les fièvres de l'âme 1800 – 1940 Ed. Ramsay, Paris1983.

38-GROSSET J, B. H., TRUFFOT-PERNOT C (1990) Mycobactéries. In Bactériologie médicale. LE MINOR L, VERON M ed. Paris, Flammarion.

39-Guide technique pour le personnel de santé : 2éme édition version 2006 PNLT/Mali.

H

40-Hansen G.A. (1874): Undersogelser angaende spedalskhedens arsager. Norsk Magasin for laegevitenskapen. 4: 1-88.

41-HARSHEY, R. M. & RAMAKRISHNAN, T. (1977) Rate of ribonucleic acid chain growth in Mycobacterium tuberculosis H37Rv. *J Bacteriol*, 129, 616-22.

42-HEIFETS, L. E. D., (2005) PP. & 49 -69. (2005) Clinical mycobacteriology (tuberculosis) laboratory:services and methods. In: Tuberculosis and the *Tubercule Bacillus.*

43-Hmdad F. (2007). Manuel de laboratoire.Institut Pasteur d'Alger.

44-Holmes CB, Hausler H et Nunn P. (1998). Une revue des différences dans l'épidémiologie de la tuberculose selon le sexe. Int J Tuberc Lung Dis. 2 (2): 96- 104.

I

45-Ilboudo D. (2013). Diagnostic moléculaire par PCR en temps réel du complexe *Mycobacterium tuberculosis* résistant a l'isoniazide et a la rifampicine. Thèse de Doctorat en Biologie Moléculaire. Université d'Ouagadougou, Faculté des Sciences de la nature et de la vie. 78.

K

46-Kim, H. R., Hwang, S. S., Ro, Y. K., Jeon, C. H., Ha, D. Y., Park, S. J., Lee, C. H., Lee, S. M., Yoo, C. G., Kim, Y. W., Han, S. K., Shim, Y. S., and Yim, J. J. (2008). Solid-organ malignancy as a risk factor for tuberculosis. Respirology 13, 413-419.

47 -Koeck JL, Gutierrez MC, Fabre M, Bernatas J et Buisson Y. **(2005).** Emergence de cas de tuberculose dus à *Mycobacterium tuberculosis* subsp. canetti à Djibouti. Comptes Rendus de Séances. Séance de la Société de pathologie exotique.,Communications libres du 16 février 2005. Institut Pasteur, Paris.

48-Kolappan C, Subramani R. (2006). Mortality of tuberculosis patients in Chennai, India. Bulletin of the World Health Organization.84:7.

L

49-Lin H. H, Ezzati M, et Murray M. (2007). Tobacco smoke, indoor air pollution and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. PLoS medicine. 4.20

50-Locht, C. (2010). The history of BCG. The Art and Science of Tuberculosis Vaccine Development. NM Nor, A. A., ME Sarmiento, eds. Oxford University Press. Locht, C. and Rouanet, C. (2011). "[New antituberculosis vaccines]." Arch Pediatr 18(9): 1023-1027.

M

51-Martinez.v,Gicquel B.téchniques diagnostique de la tuberculose et des autres mycobactérioses .Archive de pédiatrie.2005 ;12 :S96-S101.

52-Meyssonnier V. (2012). Épidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux. Thèse de Docteur l'université Pierre et Marie curie. Spécialité épidémiologie. Ecole Doctorale Pierre Louis de Santé Publique.162.

53-Minnikin, D. E. (1982). Lipids : complex lipids, their chemistry, biosynthesis and roles. In *The Biology of Mycobacteria, vol.1*. Ratledge, C. and Standford, J. (Editors). p. 95-184.

54-MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE (2011) Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies Guide de la lutte antituberculeuse. 3ème Ed.

55-Mostowy S, Behr MA. The Origin and Evolution of Mycobacterium tuberculosis. Clin Chest Med. juin 2005;26(2):207-16.

56-Murray C.J.L., Styblo K. and Rouillon A. (1990): La tuberculose dans les pays en développement: importance, stratégie de lutte et coût. Bull. Union Int. Tub. Mal. Resp. 65: 6-26.

N

57-Neyrolles, O., & Quintana-Murci, L. (**2009**). Sexual inequality in tuberculosis. *PLoS* Ndishimye P.

58-Nguyen. T. L, Wells. C. D, Binkin N. J (1999). Contrôle de qualité de l'examen microscopique des frottis pour la recherche des BAAR, le problème de relecture a l'aveugle INTJ. TUBERC. LUNG. DIS 3 (6) : 483-487 1999 IUATLD.

59-Nguyen TM, Ilef D, Jarraud S, Rouil L, Campese C and D. A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers–how far can contaminated aerosols spread? *J Infect Dis* 2006; 193: 102–7.

O

60-OMS. Les écoles de médecine et la lutte contre la tuberculose. Rapport d'un atelier de l'OMS. Rome, Italie 23-31 Octobre 1997. WHO/TB. 97. 238. Pp 54.

61-O.M.S.(2004-2005). La tuberculose. Document électronique.(http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/fr/.

62-OMS. (2011). Déterminants sociaux de la santé : résultats de la conférence mondiale sur les déterminants sociaux de la santé (Rio de Janeiro, Brésil, octobre 2011). <www.Who.int/sdconference/background/news/B130_R11-fr.pdf> (accessed 20.01.16).

63-OMS. (2011a). En route contre la tuberculose: Transformer la lutte pour parvenir à l'élimination.http://www.stoptb.org/events/world_tb_day/2011/assets/documents/ WTBD2011_keyM_FR.

64-OMS. (2011b). WHO Report 2011- Global Tuberculosis Control. <http://www.who.int/tb/publications/global_report/2011/gtbr11_full.pdf.> (accessed 03.01.16).

65-OMS (2012) Rapport OMS 2011 et Aide -mémoire OMS.

66-OMS, 2013. Tuberculose. Consulté le 13/11/2013. URL: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/fr/.

67-OMS. (2015). tuberculosis 2015<http://photos.state.gov/libraries/arsparis/ 206200/.../bif_w_**tuberculosis**.pdf> (assecced 29.12.15).

P

68-Pichard E, MINTA D Maladies Infectieuses en Afrique Brochure 2000 ; 1 :111-20.

69-Pilet C., Bourdon J. L, Toma B. et coll., (1979). Bactériologie médicale et vétérinaire. 2ème édition. Obré A, Buttiaux R (eds.). DOIN éditeurs. Paris. 438p.

70-Poulet S. (1994): Organisation génomique de *Mycobacterium tuberculosis* et épidémiologie moléculaire de la tuberculose. Thèse de Doctorat. Université Paris 6. 190p.

R

71-Ramarokoto. H, Cauchoix. B, Rakotoherisaonina. A, Rakotoherisoa. R, Ralamboson. M, Rakotondramarina. D. Réseau des laboratoires de microscopie pour le diagnostic de la tuberculose à Madagascar : contrôle de qualité des lames en 1999. Arch. Inst Pasteur Madagascar 2000 ; 66(1&2) : 18-22.

72-Rehm J, Samokhvalov AV, Neuman MG, Room R, Parry C, Lonnroth K, Patra J, Poznyak V, et Popova, S. (2009). The association between alcohol use, alcohol use disorders and tuberculosis (TB). A systematic review. BMC public health. **9**, 450.

73-Rieder H.L., Snider D.E. and Cauthen G.M. (1990): Extrapulmonary tuberculosis in the United States. Am. Rev. Resp. Dis. 141: 347-351.

74-Rouillon A., Enarson D. and Chrétien J. (1996): Epidémiologie de la tuberculose dans le monde. EMC Pneumologie. 32: 1-15.

S

75-Shinnick, T. M.; Good, R. C. "**Mycobacterial Taxonomy**". *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 1994, *13* (11), 884–901.

T

76-Takayama, K., Wang, L., and David, H. L. (1972). Effect of isoniazid on the in vivo mycolic acid synthesis, cell growth, and viability of Mycobacterium tuberculosis. Antimicrobial agents and chemotherapy 2, 29-35.

77-Thorson A. (2007). Tuberculose au masculin et au feminin. Forum Ministériel Européen de l'OMS. 2.

78-Touré N, Dia Kane Y, Diatta A, Ba Diop S, Niang A, Ndiaye E, Thiam K, MBaye F, Badiane M, Hane A. (2010). Tuberculose du sujet âgé. Revue des Maladies Respiratoires.27(9)1062-1068**.**

V

79-Valin N, Chouaïd C. La tuberculose en France en 2010 : épidémiologie, clinique et microbiologie. Rev Mal Respir. févr 2012;29(2):267-76.

80-Vander Beken, S., Al Dulayymi, J. R., Naessens, T., Koza, G., Maza-Iglesias, M., Rowles, R.,Theunissen, C., De Medts, J., Lanckacker, E., Baird, M. S. and Grooten, J. (2011). "Molecular structure of the *Mycobacterium tuberculosis* virulence factor, mycolic acid, determines the elicited inflammatory pattern." Eur J Immunol (2): 450-460.

81-Vincent V, Marchal G. Tuberculosis : *Mycobacterium tuberculosis* and its host. *Rev Praticien*. 2002;52(19):2111-2114.

W

82-Weiss, M. G., Uplekar, M. W., & Sommerfeld, J. (**2008**). Gender and TB : socio-cultural aspects. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, *12*(7), 825–828.

83-World Health Organization. Global tuberculosis control: WHO report 2010. WHO/HTM/TB/2010.7. Geneva 2010.

Y

84-kheder A et Drira I. (2009). La tuberculose pulmonaire du sujet âgé. Revue des maladies respiratoires.26.132.

85-Younoussou H. problématique de la tuberculose pulmonaire a bacilloscopie negative dans les CSREF des com II, V, VI et le service de PPH à Thèse Med. Bamako 2010: N 10M515:79P.

Z

86-Zellweger J-P, Barben J et Hammer J. (2007). Diagnostic et traitement de la tuberculose chez l'enfant. Paediatrica.18(4) :22-24.

87-ZUMLA A, RAVIGLIONE MC, HAFNER R, *et al.* Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2013 Feb 20;368(8):745-55.

Annexes

Annexes

Annexe N°I :

❖ **Coloration de ZIEHL NEELSEN :**

- **La fuchsine de ziehl**

Fuchsine basique …….....10mg

Alcool à 75°……100ml

Phénol aqueux …….55ml

Eau distillée …… .1000ml

- **Solution aqueuse d'acide sulfurique à 25 %**

Eau, distillée si possible..... 300 ml

Acide sulfurique,concentré†† ..... 100 ml

Placer 300 ml d'eau dans un flacon d'un litre du type Erlenmeyer. Ajouter lentement 100 ml d'acide sulfurique concentré en le laissant couler le long de la paroi du flacon. Le mélange va chauffer. Ne jamais mettre l'eau dans l'acide sulfurique concentré ; ceci peut provoquer des éclaboussures explosives.

- **Bleu de méthylène phéniqué**

Bleu de méthylène…..... 20 g

Alcool éthylique 75°……...100ml

Phénol aqueux…… 22 ml

Eau distillée…… 1000 ml

- **Phénol aqueux ou acide phéniqué aqueux**

Phénol cristallisé…… 1 kg

Eau distillée…… 100 ml

❖ **Coloration à l'Auramine**

✓ **Technique de coloration :**

* Fixer les frottis à l'alcool ou à la chaleur
* Recouvrir à l'auramine pendant 20 mn
* Laver à l'eau
* Décolorer à l'alcool-acide pendant 10 mn
* Laver à l'eau
* Recolorer au rouge thiazine pendant 5 mn

* Laver à l'eau

* Sécher les lames.

- ✓ **Réactifs :**
  - ➢ **Solution 1 :**

Auramine…… 1 g

Eau distillée…… 500 ml

  - ➢ **Solution 2 :**

Chlorure demagnésium…… 2 g

Phénol aqueux…… 50 ml

Eau distillée…… 500 ml

  - ➢ **Solution de décoloration (alcool-acide)**

Alcool à 75°…… 1000 ml

HCl concentré…… 5 ml

NaCl …….. 5g

  - ➢ **Solution de contre colorant le rouge thiazine**

Rouge thiazine……..... 1 g

Chlorure de magnésium…… 2 g

Phénol aqueux…….. 50 ml

Eau distillée…….. 1000 ml

  - ➢ **Phénol aqueux**

Phénol cristallisé…… 1 kg

Eau distillée…… 100 ml.

- ✓ **Observation des lames :**

Les lames sont observées au microscope à fluorescence avec un objectif à sec à faible grossissement x 25 ou x 40. Ce microscope est muni d'une lampe à ultraviolet qui permet de visualiser les bacilles fluorescents. Ceux-ci sont bien visibles sous forme de bâtonnets jaune-vert fluorescents sur un fond rouge.

Annexes

❖ **Le milieu de culture lowenstein-Jensen**

✓ **Ingrédients:**

Milieu Löwenstein base ……..……7,2g
Eau distillée q.s.p……...600ml
OEufs entiers……100ml

✓ **Composition du milieu de base (37g dans 600ml d'eau distillée)**

Bacto Asparagine……..3,6g
Mono Potassium Phosphate……2,4g
Magnesium Sulfate…….0,24g
Magnesium Citrate…….0,6g
Potato Flour…….30g
Malachite Green…….0,4g

✓ **Préparation:**

Le milieu de base est suspendu dans l'eau distillée dans un erlenmeyer propre. La suspension est agitée, chauffée jusqu'à dissolution complète, stérilisée à l'autoclave pendant 15-20 minutes à 120°C, puis refroidie à 56°C. Les oeufs sont lavés à l'eau du robinet, séchés par un linge propre puis désinfectés avec de l'alcool puis du lugol. Le contenu des oeufs est ensuite récupéré d'une manière aseptique dans un erlenmeyer stérile puis homogénéisé par agitation magnétique. Une quantité de 100ml de cette préparation est ajoutée à la solution de base, stérile, puis le tout est bien homogénéisé avant la distribution dans des tubes à vis. Ces derniers sont ensuite incubés en position inclinée dans un four pasteur préchauffé à 100°C pendant 1 heure, afin de solidifier le milieu par coagulation. Les
tubes sont ensuite refroidis doucement avant de les incuber (toujours en position inclinée) à 37°C pendant 24-48 heures, pour éliminer l'excès de buée et tester la stérilité du milieu.

Annexes

Annexe N°II.

- **Mode de recueil des expectorations :**

Les échantillons d'expectoration devraient être prélevés à l'air libre, à l'abri des regards et aussi loin que possible d'autres personnes. A défaut, l'on devrait utiliser un local séparé et bien ventilé. L'agent de santé c'est au moment où les sujets suspects de tuberculose toussent que le risque de chargé du recueil de l'expectoration devrait rassurer les sujets suspects de tuberculose en leur expliquant les raisons de l'examen et leur donner des indications sur la manière de tousser qui permet de produire une expectoration provenant de la profondeur du thorax. Avant de refermer le crachoir, l'agent de santé devrait s'assurer que le volume de,l'échantillon est suffisant (2 ml au moins) et qu'il contient pas de la salive mais des produits visqueux ou purulents dont la présence augmente la sensibilité de la détection des bacilles par la microscopie. Toutefois, même si le prélèvement paraît salivaire, ou, comme cela se produit fréquemment dans les échantillons « sur place », si les volumes sont inférieurs à 2 ml, il faut néanmoins examiner l'échantillon car il est parfois susceptible de donner des résultats positifs.

- **Technique de centrifugation en cas de tubage gastrique et aspiration bronchique :**

L'expectoration est mise dans un tube de centrifugation, auquel sont ajoutés deux volumes d'hydroxyde de Sodium à 4%. Après 15 minutes d'agitation , le tube est centrifugé à 3000 tr/min pendant 15 minutes. Le surnagent est éliminé et le culot est lavé à l'eau distillée stérile. Le tube est centrifugé une seconde fois pendant 15 minutes à 3000 tr/min, le culot est ensuite mis en suspension dans 2ml d'eau distillée stérile. Un frottis est réalisé et coloré par la méthode de Ziehl-Neelsen afin de vérifier que l'on est bien en présence de mycobactéries. Les préparations sont ensemencées sur milieu Lowenstein-Jensen **.**

Annexe N°III :

- **Vaccination BCG :**
  - ✓ **Bénéfices :**
  - Pouvoir protecteur élevée chez les nouveau-né 75-80% **.**
  - 65% d'efficacité chez l'adolescent et l'adulte.Une longue durée de protection ,10 à 15 ans**.**

- Bénéfice individuel et non collectif **.**

✓ **Risque :**

- Complication locales et loco-régionales :
- Cicatrice au point d'injection
- Abcès
- Une adénite de taille supérieure à 1 cm de diamètre
- Une ulcération avec suppuration au site de l'injection
- Evolution des ulcérations locales chez les sujets immunocompétents
- Réaction systématique incluant :la fièvre,des céphalées,des réaction allérgiques,des ostéites**.**

Les mésures préventive :

- Les principes suivants doivent être observes:
  - **Dépistage précoce et traitement de la tuberculose:**

✓ Il est prouve qu'un dépistage précoce et un traitement adéquat immédiat constituent la mesure préventive la plus importante.

  - **Isolement des patients contagieux:**

✓ Les patients suspects de tuberculose infectieuse, de même que ceux présentant au microscope des bactéries tuberculeuses dans leurs expectorations doivent être immédiatement isoles.

  - **Instruction et formation continue du personnel :**

✓ L'instruction et la formation continue des employés sur le risque et la prévention de la tuberculose dans le cadre professionnel sont un élément important pour interrompre la chaine de transmission**.**

Résumé

Cette étude consiste à suivre le diagnostic de la tuberculose pulmonaire par bacilloscopie et culture et l'étude des facteurs de risques associe aux déférentes formes de la tuberculose pulmonaire à été également abordée chez les patients adressés au laboratoire des analyses médicales Dr SAYAH de Bouira par différents centres de soin externes et médecines privés. 260 patients diagnostiqué ont été testés par bacilloscopie et par culture pendant 2 mois, en utilisant la coloration de Ziehl Neelsen qui permet de mètre en évidence le nombre des BAAR a l'aide d'un microscope et une culture *M. tuberculosis* isolées à partir des crachats sur Lowenstein-Jensen et afin de déterminer les facteurs de risque.

Au cours de cette étude, **134** cas étaient diagnostiqués positifs pour la tuberculose pulmonaire, ce qui donne un taux de **51,53%.** Sur ce total ,**127** cas proviennent des résultats de la Bacilloscopie en fonction du nombre de BAAR observés avec un taux de **48.84%** et **07** cas proviennent des résultats de la recherche des mycobactéries par culture sur gélose Lwenstein- Jensen, après avoir fait une culture sur **56** prélèvements négatives, avec un taux de **12.5%**.

Les résultats obtenus dans cette étude ont révélé que bacilloscopie est déterminante à elle seule dans la diagnostic de la tuberculose pulmonaire, sans tests complémentaire.

Mots clés: *M. tuberculosis,* tuberculose pulmonaire, bacilloscopie, Ziehl Nielsen, culture sur Lowenstein-Jensen.

Abstract

This study consists in following the diagnosis of pulmonary tuberculosis by bacilloscopy and culture and the study of the risk factors associated with the different forms of pulmonary tuberculosis was also addressed in patients referred to to the medical analysis laboratory Dr SAYAH from Bouira by different external care centers and private medicines. **260** patients diagnosed were tested by bacilloscopy and by culture for 2 months, using Ziehl Neelsen staining which allows to meter the number of BAAR using a microscopic and a M. tuberculosis culture isolated from the spitting on Lowenstein-Jensen and to determine risk factors.

In this study, **134** cases were diagnosed as positive for pulmonary tuberculosis which gives a rate of **51, 53%**. Of this total, **127** cases are from the results of Bacilloscopy as a function of the number of BAAR observed with a rate of **48.84%** and **07** cases come from the results of the research of mycobacteria by culture on Lwenstein-Jensen agar, after having made a culture on **56** samples negative, with a rate of **12.5%.**

The results obtained in this study revealed that bacilloscopy alone is crucial in the diagnosis of pulmonary tuberculosis, without any additional tests.

Key words: M. tuberculosis, pulmonary tuberculosis, bacilloscopy, Ziehl Nielsen, Lowenstein-Jensen culture.