

TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE	1-5
LISTE DES ABREVIATIONS	7-9
LISTE DES TABLEAUX	10,11
LISTE DES FIGURES	12, 13
LISTE DES PHOTOS DES CAS	14
CHAPITRE I : INTRODUCTION – GENERALITES	
I.INTRODUCTION – GENERALITES	16
I.1. HISTORIQUE DE LA TUBERCULOSE	17
I.2. CLASSIFICATION ET PROPRIETES DES MYCOBACTERIES	20
I.2.1. Classification et nomenclature des mycobactéries	20
I.2.1.1. Mycobactéries tuberculeuses(MT)	22
I.2.1.2. Mycobactéries non tuberculeuses cultivables in vitro.....	23
I.2.1.3.Mycobactéries non tuberculeuses, non cultivables in vitro.....	23
I.2.2. Caractères bactériologiques de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	24
I.2.2.1. Habitat.....	24
I.2.2.2. Caractères morphologiques.....	24
I.2.2.3. Constitutions chimiques et antigéniques.....	24
I.2.2.3.1. Richesse en lipides.....	24
I.2.2.3.2. Propriété d'acido-alcool-résistance.....	25
I.2.2.3.3. Application aux colorants de Ziehl-Neelsen et ses dérivés.....	26
I.2.2.4. Propriétés physiques et chimiques (résistance dans le milieu extérieur)..	27
I.2.2.4.1. Action des agents physiques.....	27
I.2.2.4.2. Action des agents chimiques.....	27
I.2.2.5. Caractères culturels.....	27
I.2.2.5.1. Milieux solides.....	28
I.2.2.5.2. Milieux liquides.....	29
I.2.2.5.3. Utilisation de ces différents milieux de culture.....	30
I.2.2.6. Caractères biochimiques – produits élaborés – identification des Mycobactéries.....	30
I.2.2.6.1. Synthèse de niacine (ou acide nicotinique)	30
I.2.2.6.2. Présence d'une nitrate-réductase.....	31
I.2.2.6.3. Activité catalasique.....	31
I.2.2.6.4. Résistance à l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxilique et sensibilité au pyrazinamide.....	31
I.2.2.6.5. Présence d'une uréase, d'une nicotinamidase et d'une Pyrazinamidase	32

I.4.3.1. Tuberculides papulonécrotiques.....	60
I.4.3.2. Lichen scrofulosorum.....	60
I.4.3.3. Tuberculides papulo-nodulaires de la face :	60
I.4.3.4. Erythème induré de Bazin :	61
I.4.3.5. Erythème noueux.....	62
I.4.4. Effets secondaires du BCG.....	63
I.5.TRAITEMENT.....	63
I.5.1. Prévention :	63
I.5.2. Traitement de la tuberculose cutanée.....	64
I.5.2.1. Médicaments essentiels utilisés en Algérie.....	64
I.5.2.2. Médicaments de réserve.....	66
I.5.2.3. Nouveaux antituberculeux.....	66
I.5.2.4. Régimes thérapeutiques.....	67
I.5.2.4.1. Régime de 1 ^{ère} ligne	67
I.5.2.4.2. Régime standardisé de 2 ^{ème} ligne.....	67
I.5.2.5. Surveillance du traitement.....	68

CHAPITRE II : MOYENS DE DIAGNOSTIC

II.1. TESTS IMMUNOLOGIQUES.....	71
II.1.1. Intradermoréaction à la tuberculine (IDRT)	71
II.1.1.1. Technique	71
II.1.1.2. Lecture.....	71
II.1.1.3. Interprétation	71
II.1.1.4. Indications de l'IDRT.....	73
II.1.2. Tests de détection de l'IFNγ.....	73
II.1.2.1. Principe	73
II.1.2.2. Tests ELISA (<i>enzyme linked immunosorbent assay</i>).....	74
II.1.2.3. Test ELISPOT (<i>enzyme-linked immunospot</i>).....	74
II.1.2.4. Avantages et inconvénients des tests de détection de l'IFN γ par rapport à l'IDRT.....	75
II.1.3. Tests immunologiques de détection d'antigènes.....	76
II.1.3.1. LAM urine Test (Chemogen, USA) :	76
II.1.3.2. Test Patho-TB® (Anda Biologicals, France)	76
II.1.3.3. Test de détection d'antigènes (Proteome Systems, Australie)	76

II.4.2.2.2.1. Test d'amplification Amplicor® (Roche).....	101
II.4.2.2.2.2. T.M.A. (Transcription Mediated Amplification) Gen- Probe ou amplified <i>M.T</i> direct test (AMTDT).....	101
II.4.2.2.2.3. S.D.A. (Strand displacement Amplification) BD Probe Tec TM ^{ET} DT assay.....	102
II.4.2.2.2.4. Test d'amplification génique par la méthode de LCx® (Abott) (ligase chain reaction amplification)	102
II.4.2.2.2.5. NASBA (Nucleic Acid Sequence Based Amplification).	102
II.4.2.2.2.6. Technique GenoQuick® MTB.....	102
II.4.2.2.2.7. Méthodes de détection du complexe <i>tuberculosis</i> et de la résistance à l'antibiotique.....	103
II.4.2.2.2.7.1. Xpert® MTB/Rif.....	103
II.4.2.2.2.7.2. GenoType MTDR <i>plus</i> TM et GenoType MTDR TM <i>sl</i>	103
II.4.2.2.2.7.3. Technique Inno-Lipa TM Mycobacteria <i>Innogenetics</i>	104
II.4.2.3 Autres techniques de biologie moléculaire permettant la détection du <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	105
II.4.2.3.1. Typage des souches.....	105
II.4.2.3.2. Spoligotyping ou Spoligotypage «spacer oligonucleotide typing»	105
II.4.2.3.3. Puces à ADN pour le génotypage des mycobactéries.....	105
II.4.2.4 Techniques d'identification des espèces mycobactériennes en culture:....	106
II.4.2.4.1. Sondes nucléiques.....	106
II.4.2.4.2. Méthodes d'identification des espèces mycobactériennes après amplification génique.....	107
II.4.2.4.2.1. Séquençage automatique.....	107
II.4.2.4.2.2. Analyse des produits d'amplification par l'analyse du polymorphisme des fragments de restriction (RFLP)...	107
II.4.2.4.2.3. Inno-Lipa® et GenoType® MTBC.....	107
II.4.2.4.3. Technique d'immunochromatographie.....	107
II.4.3. Efficacité des techniques d'amplification génique.....	108

CHAPITRE III : TRAVAIL EXPERIMENTAL

III.1. PROBLEMATIQUE	114
III.2. METHODOLOGIE	115
III.2.1. Objectifs	115
III.2.2. Limites et difficultés de l'étude	115
III.2.3. Protocole d'étude	115
III.2.3.1. Matériels et méthodes.....	115

III.2.3.2. Techniques de prélèvement et d'acheminement.....	116
III.2.3.3. Différents laboratoires où ont été effectuées les analyses bactériologiques et la PCR.....	117
III.2.3.4. Technique de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	118
III.2.3.4.1. Réactifs et matériels.....	119
III.2.3.4.2. Présentation de la cartouche GeneXpert.....	122
III.2.3.4.3. Le module GeneXpert.....	124
III.2.3.4.4. Performances.....	125
III.2.3.4.5. Manipulation de l'échantillon.....	126
III.2.3.4.6. Principe.....	128
III.2.3.4.7. Interprétation des résultats.....	131
III.3. ETUDE ANALYTIQUE.....	137
III.3.1. Recrutement des malades.....	137
III.3.2. Sur le plan paraclinique.....	137
III.3.3. Iconographie et présentation de malades.....	138
III.3.4. Techniques d'exploitation des données.....	157
III.3.4.1. Etude épidémiologique.....	158
III.3.4.2. Interprétation des tests statistiques.....	179
CHAPITRE IV : DISCUSSION ET CONCLUSION	
IV.1. DISCUSSION.....	182
IV.2. CONCLUSION.....	199
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	201
ANNEXES	
RESUMES	

LISTE DES ABREVIATIONS ET DES ACRONYMES

A : adénine.
ADN: Acide Désoxyribonucléique.
ITS: Internal Transcribed Spacer.
Ala : alanine.
Araf : arabinofuranose.
Arg : arginine.
ARN: Acide Ribonucléique.
ARNm / mRNA: Acide RiboNucléique.
ARNr : Acide Ribonucléique ribosomal ou ribosomique.
ARNr 16S :constituant ARN de la petite sous unité ribosomique de 30 S des procaryotes en plusieurs copies, impliqué dans la lecture de l'ARNm..
ATP : Adénosine triphosphate.
B.A.A.R. : bacille acido-alcool-résistance.
BCG : Bacille de Calmette et Guérin.
Bcl-2 : protéine pro-apoptotique ou anti-apoptotique.
BK : Bacille de Koch.
C : Cytosine.
CD4+ : lymphocyte T helper ou auxiliaire.
CD8+ : lymphocyte T suppresseur/cytotoxique.
CH₂: hydrate de carbone = sucre.
Ct : Threshold cycle.
DC :Dendritic Cell.
DNA polymérase: Taq Polymérase thermostable de *Thermophilus aquaticus*
d NTPs : 4désoxyribonucléotides.
DR : Direct Repeat.
ELISA: enzyme linked immune-sobent assay (method immune-enzymatique).
G : Guanine.
Galf : galactofuranose.
GlcNAc : N-acétylglucosamine
Gly : glycine.
HIS : hybridation in situ.
HLA : human leukocyte antigen
HPLC : chromatographie liquide à haute performance.
H₂SO₄ : acide sulfurique.
NaOH : hydroxyde de sodium (soude)
Hsp 65: Heat Shock protein 65 kDa.
HSR : hypersensibilité retardée.
ICAM1: intercellular adhesion molecule1.
IDRT : intradermo-réaction à la tuberculine.
IFN : Interféron.
IFN γ :interféron gamma.
IL : interleukine.
IS : séquence d'insertion.
ISG15 : interferon stimulated gene 15, interféron –alpha/béta- inductible sécrété par les leucocytes-granulocytes.
JAK-STAT : dimère formé par 2 protéines JAK (Janus kinases) et STAT (signal transducers and activators of transcription) : ce dimère migre dans le noyau où il

stimule la transcription de gènes cibles spécifiques.

KCl : chlorure de potassium.

LAM : LipoArabinoMannane.

L-J: Löweinstein-Jensen.

LM : LipoMannane.

M : *Mycobacterium*.

MgCl₂ : chlorure de magnesium.

manp : mannopyranose.

Mantoux test : intradermo-réaction à la tuberculine.

MDP : muramyl dipeptide.

MDR : multi drug resistant.

MgCl₂ : chlorure de magnesium.

MGIT : *Mycobacterium* growth indicator tube.

MIRU: Mycobacterial interspaced repetitive unit.

MR : Mannose Receptor.

MTB: complexe *Mycobacterium tuberculosis*.

MTPR: Major Polymorphic Tandem Repeats.

N (au niveau des tableaux) : nombre.

n (au niveau des graphes) : nombre.

NaOH : hydroxyde de sodium (soude).

NF-κB : Nuclear Factor-kappa , protéine déclenchant la transcription de gènes anti-apoptotiques dans le noyau.

NK : lymphocyte T Natural Killer (tueur naturel).

NOD: nucleotide oligomerization domain.

NRAMP1: Natural Resistance Associated Macrophage Protein 1.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

PAS: acide paramino-salicylique.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

Pb : Paire de bases.

RD1 : region of difference 1.

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism.

PBS: tampon phosphate salin.

PGRS: Polymorphic G.C. Rich Repetive Sequences.

PIM: phosphatidylinositolmannoside.

PO₄ : ion phosphate.

PPD : purified protein derivative = intradermo-réaction à la tuberculine.

Pro : proline.

Rha : rhamnose.

RLU : unité relative de lumière.

rpoB: gène codant pour la sous unité bêta de l'ARN polymérase.

SDS: Sodium Dodecyl Sulfate.

SIDA: Syndrome d'immuno-déficience acquise.

T: thymine.

Taq: *Thermus aquaticus*.

TLR: Récepteur Toll-Like.

TNF: Tumor Necrosis Factor.

Trp : tryptophane.

UFC : unité formant colonie ou CFU (en anglais) : colony-forming unit (CFU).

UICTMR: Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires.

UV: Ultraviolets.

VIH: Virus d'immunodéficience humain.

WHO: World Health Organization.

XDR : Extreme drug resistant.

Clicours.COM

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Caractères d'identification des bacilles du complexe <i>tuberculosis</i>	32
Tableau II. Distribution des différentes atteintes cutanées tuberculeuses à travers le monde.....	45
Tableau III. Distribution des différentes atteintes cutanées tuberculeuses aux pays du Maghreb	47
Tableau IV. Classification de la tuberculose cutanée selon BEYT.....	48
Tableau V. Classification selon la charge bactérienne et le mécanisme de propagation.....	49
Tableau VI. Spectre clinico-immunologique de la tuberculose cutanée. Classification selon la charge bacillaire et le degré de l'immunité de l'hôte.....	49
Tableau VII. Classification selon de nombreux critères (le stade primaire ou secondaire de la lésion, la source, le mode d'infection, l'aspect, l'immunité, la bactériologie, l'histologie et l'évolution.....	50
Tableau VIII. Classification distinguant les formes de tuberculose cutanée vraie des formes réactionnelles.....	51
Tableau IX. Traitement des nouveaux cas de tuberculose (nombre de comprimés à Prescrire pour prise orale quotidienne)	66
Tableau X. Interprétation des résultats de l'examen microscopique (méthode de Ziehl et méthode à l'auramine).....	80
Tableau XI. Rendu des résultats de la culture.....	84
Tableau XII. Différents produits contenus dans la cartouche.....	120
Tableau XIII. Répartition en fonction de l'âge et du sexe.....	159
Tableau XIV. Répartition selon l'état civil.....	160
Tableau XV. Habitudes de vie.....	163
Tableau XVI. Interprétation de l'IDRT en fonction de la présence de la cicatrice de BCG.....	165
Tableau XVII. Antécédents personnels médicaux.....	166
Tableau XVIII. Localisations extra-cutanées associées.....	168
Tableau XIX. Répartition selon le protocole thérapeutique.....	173
Tableau XX. Comparaison la PCR et la culture dans la tuberculose cutanée.	175

Tableau XXI.	Comparaison des résultats de la PCR et de la culture dans les formes multibacillaires.....	175
Tableau XXII.	Comparaison des résultats de la PCR et de la culture dans les formes paucibacillaires.....	176
Tableau XXIII.	Comparaison des résultats de la PCR et de l'histologie.....	176
Tableau XXIV.	Comparaison des résultats de la PCR et de la cytologie (pus).....	177
Tableau XXV.	Culture et formes cliniques.....	177
Tableau XXVI.	PCR et formes cliniques.....	178
Tableau XXVII.	IDRT et formes cliniques.....	178
Tableau XXVIII.	Comparaison du profil épidémiologique et des résultats les études chinoise (C.K.Ho) et mexicaine (A.H.Solis).....	186
Tableau XXIX.	Comparaison du profil épidémiologique et des résultats avec 4 autres études	187
Tableau XXX.	Comparaison entre la fréquence des différentes formes cliniques.....	188
Tableau XXXI.	Comparaison du siège des lésions avec celui de l'étude mexicaine et de l'étude chinoise.	189
Tableau XXXII.	Comparaison des atteintes extra-cutanées associées.....	190
Tableau XXXIII.	Comparaison des résultats de notre série et des performances de la PCR en fonction des formes cliniques avec les autres études.....	191
Tableau XXXIV.	Etude comparative du taux de positivité de la culture selon la classification qui sépare les formes multibacillaires des formes paucibacillaires (selon la charge bactérienne).....	193
Tableau XXXV.	Etude comparative du taux de positivité de la culture selon la classification qui distingue les formes de tuberculose cutanée vraie des formes réactionnelles.....	193
Tableau XXXVI.	Etude comparative du taux de positivité de la PCR selon les formes de tuberculose cutanée vraie et les formes réactionnelles.....	195

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Aspect de cordes que représente le <i>M. tuberculosis</i> à la culture en milieu liquide.	21
Figure 2 : Filiation taxonomique des mycobactéries	21
Figure 3 : Structure de la paroi des mycobactéries.	25
Figures 4: Aspect des B.A.A.R. à la coloration de Ziehl Neelsen.	26
Figure 5 : Coloration à l'auramine.	27
Figures 6 : Aspect des colonies du <i>Mycobacterium tuberculosis</i> à la culture sur le milieu de Löwenstein-Jensen.	29
Figure 7 : Colonies de <i>M. tuberculosis</i> sur milieu de culture gélosé	29
Figure 8 : Types de cellules intervenant dans l'immunité de la tuberculose.....	36
Figure 9 : Principaux constituants de l'enveloppe mycobactérienne en particulier les structures antigéniques (LAM, LM, PIM).	37
Figure 10 : Voie JAK-STAT.	39
Figure 11 : Structure du granulome mycobactérien.	40
Figures12 : Réaction positive à l'intradermoréaction à la tuberculine.	72
Figure 13 : Tests immunologiques de la tuberculose.	75
Figure 14 : Organigramme du traitement d'un prélèvement par mise en évidence des mycobactéries.	79
Figures 15: Culture sur le milieu de Löwenstein-Jensen	85
Figure 16 : BACTEC-MGIT: Détection d'un complexe fluorescent après réduction de la tension d'O ₂	87
Figure 17 : Culture sur le milieu liquide MGIT+.....	88
Figure 18 : Automate Bactec 960 (MGIT).	88
Figure 19 : Méthode de culture liquide MB Redox (précipitation de grains rouges indiquant la baisse de la pression partielle en oxygène).	88
Figure 20 : Flacons pour la culture Bact Alert	89
Figure 21 : Sensibilité des outils de diagnostic de la tuberculose.....	89
Figure 22 : Virus mycobactériophages porteurs du gène de la luciférase.....	91
Figure 23 : Aspect histologique du granulome tuberculoïde avec nécrose caséeuse centrale.	94
Figure 24 : Structure de la molécule d'ADN.	97
Figure 25 : Synthèse de l'ADN.	98
Figure 26 : Etapes de la PCR classique.	100
Figure 27 : MTDR Plus	104
Figure 28 : Exemple de bandelette d'Inno-Lipa™ Mycobacteria	104
Figures 29: Puces à ADN.....	106
Figure 30 : Moyens de diagnostic des infections à <i>M. tuberculosis</i> (schéma récapitulatif).	111
Figure 31 : Instruments nécessaires pour la technique GeneXpert.	119
Figure 32 : Composition du kit MTB/RIF.	120
Figure 33 : Cartouche (à droite) et le flacon d'hydroxyde de sodium et isopropanol (à gauche) pour le traitement de l'échantillon.....	121
Figure 34 : Coupe transversale de la cartouche.	121
Figure 35 : Coupe horizontale de la cartouche	122

Figure 36: Configuration de la cartouche conforme au déroulement de toutes les étapes PCR.	122
Figure 37 : Cartouche et instruments situés en interface	123
Figures 38: Tube PCR.	123
Figure 39 : Au niveau du module, la région du I-core est dotée d'un appareil de chauffage et d'un ventilateur.	124
Figure 40 : Module Gene Xpert	124
Figure 41 : Système du corps de la valve.	125
Figure 42 : Préparation de l'échantillon pour la PCR Xpert® MTB/RIF.	127
Figure 43 : Déposer 2 ml de culot décontaminé avec le réactif prélevé à l'aide d'une pipette dans la chambre de la cartouche (la troisième chambre).	127
Figure 44 : Lecture du code-barres de la cartouche à l'aide d'un scanner.	128
Figure 45 : Traitement de l'échantillon sera suivi par son dépôt dans la cartouche qui sera introduite à l'intérieur du module de GeneXpert pour le test.....	128
Figure 46 : Détection de l'émission de fluorescence se fait grâce à des blocs optiques..	130
Figure 47 : Procédé de l'amplification génique par la méthode "Molecular beacon" (balise moléculaire).	131
Figure 48 : Types de fluorochrome détectés.	132
Figure 49 : Courbes sigmoïdes témoignant des résultats de la PCR en temps réel.....	133
Figures 50 : Affichage des résultats du test Xpert®MTB/RIF.	134+135
Figure 51 : Séquences qui déterminent la résistance à la rifampicine.	136
Figure 52 : Répartition en fonction de la tranche d'âge.	160
Figure 53 : Répartition selon la wilaya de résidence.	161
Figure 54 : Répartition en fonction du niveau socio-économique.....	162
Figure 55 : Mode de vie.	162
Figure 56 : Répartition selon la profession.	163
Figure 57 : Contage tuberculeux.	164
Figure 58 : Cicatrice du BCG.	164
Figure 59 : Répartition selon la durée de l'évolution.	166
Figure 60 : Signes d'imprégnation.	167
Figure 61 : Répartition selon les formes cliniques.	168
Figure 62 : Répartition selon les aspects histologiques.	169
Figure 63 : Répartition selon les résultats de la cytologie (pus)	170
Figure 64 : Résultats de la culture.	171
Figure 65 : Répartition selon les résultats de la PCR.	171
Figure 66 : Résultats de la PCR dans les formes multibacillaires.....	172
Figure 67 : Résultats de la PCR dans les formes paucibacillaires.	172
Figure 68 : Réponse au traitement.	174
Figure 69 : Apport des tests Xpert® MTB/RIF pour le diagnostic de la tuberculose extrapulmonaire.	183

LISTE DES PHOTOS

Photo cas n°1 : Erythème induré de Bazin chez une patiente âgée de 61 ans.	139
Photo cas n°2 : Erythème induré de Bazin.	139
Photo cas n°3 : Erythème noueux tuberculeux chez une patiente de 37 ans.	140
Photo cas n°4 : Tuberculose verruqueuse chez un boucher	140
Photo cas n°5 : Tuberculose verruqueuse chez un agriculteur.	141
Photo cas n°6 : Tuberculose verruqueuse de la main gauche chez un boucher	142
Photo cas n°7 : Tuberculose verruqueuse du médus droit.	142
Photos cas n°8 : Lésions de scrofuloderme à double localisation latéro-cervicale et axillaire.....	143
Photo cas n°9 : Scrofuloderme à proximité de l'aréole mammaire par contiguïté à une mastite tuberculeuse.	143
Photo cas n°10 : Scrofuloderme en voie de cicatrisation.	144
Photos cas n°11 : Scrofuloderme associé à un mal de Pott lombaire	144
Photos cas n°12 : Scrofuloderme à double localisation cervicale et axillaire.	145
Photos cas n°13 : Scrofuloderme à double localisation sus claviculaire et au niveau de la région du coude.	146
Photos cas n°14 : Scrofuloderme latéro-cervical gauche au stade de fistulisation contigu à une adénite tuberculeuse.	146
Photos cas n°15 : Scrofulodermes latéro-cervicaux gauches.	147
Photos cas n°16 : Gommès au niveau de la fesse gauche.	148
Photo cas n°17 : Gomme au stade de ramollissement au niveau de l'avant bras droit chez un sujet sidéen.	149
Photo cas n°18 : Tuberculides papulo-nodulaires de la face.	150
Photos cas n°19 : Lupus tuberculeux du visage.	151
Photos cas n°20 : Lupus tuberculeux au niveau du tronc	152
Photos cas n°21 : Lupus tuberculeux à localisations multiples (visage, pavillon des oreilles et avants bras).....	152+153
Photos cas n°22 : Lupus tuberculeux au niveau de la joue droite chez une patiente de 60 ans.....	154
Photos cas n°23 : Lupus tuberculeux au niveau de la joue droite et à proximité de la pointe du nez chez une patiente âgée de 28 ans.	154
Photos cas n°24 : Lupus tuberculeux à localisations multiples (nez, région scapulaire droite et la fesse gauche) chez une femme de 23 ans	155
Photo cas n°25 : Tuberculose verruqueuse.	156

CHAPITRE I

INTRODUCTION-GENERALITES

I. INTRODUCTION – GENERALITES

La tuberculose cutanée représente des manifestations dermatologiques dues aux mycobactéries du complexe *tuberculosis*. Elle constitue une localisation rare parmi les atteintes extrapulmonaires dont elle ne représente que les 2,1 %. Elle sévit à l'état endémique dans les pays tropicaux et maghrébins du fait de la forte endémicité tuberculeuse dans ces régions. En Algérie et dans les autres pays du Maghreb, la tuberculose subsiste toujours et semble être en rapport surtout avec la précarité des conditions socio-économiques[1-5].

La tuberculose est toujours observée avec une grande fréquence dans les pays tropicaux et cela semble être en rapport avec la surpopulation, la malnutrition, la recrudescence du Sida et l'accès limité aux soins [6]. Par ailleurs, on note sa résurgence depuis les années 90 dans les pays occidentaux [7]. Ce phénomène semble être lié à la co-infection par le VIH, à l'utilisation de nouvelles molécules immunosuppressives (la biothérapie), à l'apparition de souches multirésistantes, aux migrations de populations et à un nombre croissant de personnes en situation sociale défavorable dans les pays développés[7].

La tuberculose cutanée peut revêtir des aspects anatomocliniques variés. Cette variété dépend du nombre et de la virulence des bacilles, de la voie de contamination et de l'immunité de l'hôte [7]. Son diagnostic microbiologique est parfois facile dans les formes multibacillaires. Par contre, il est beaucoup plus difficile dans les formes paucibacillaires. Habituellement, le diagnostic de la tuberculose cutanée repose sur la conjonction d'arguments épidémiologiques, cliniques, immunologiques et histologiques, c'est dans ces formes que l'amplification génique par PCR pourrait prendre toute sa valeur potentielle [7-9]. La tuberculose demeure l'un des problèmes majeurs de santé publique dans le monde, c'est une maladie qui reste d'actualité [9,10].

I.1. HISTORIQUE

La tuberculose est une maladie infectieuse au long cours aux manifestations très diverses, affectant les hommes et les animaux. La souche originelle de l'agent causal

serait apparue en Afrique de l'Est, région considérée comme le berceau de l'humanité [11-13].

De l'Antiquité au XIX^{ème} siècle

Depuis l'antiquité, s'opposent deux théories sur l'origine de la maladie :

- Pour certains auteurs, la maladie serait donc aussi vieille que l'humanité et son expansion à travers le monde serait intimement liée à celle de l'homme. Ce serait l'homme qui aurait transmis la maladie à ses animaux domestiques ou commensaux et non l'inverse [14].
- Pour d'autres, la tuberculose existerait chez l'animal de façon endémique depuis très longtemps. Les premiers cas de tuberculose humaine seraient certainement plus tardifs, il y a 8000 ans avec le développement de l'agriculture et le regroupement des communautés au sein de villages. La bactérie en cause serait *M.Bovis* [15-17].
- 3000 ans avant J-C : certaines momies égyptiennes (de la XXI^{ème} dynastie) révèlent des signes évidents de la tuberculose: maladie de Pott avec déformation de la colonne vertébrale [13,16].
- V^{ème} siècle avant J-C : description précise de la « phtisie » ou « consommation » dans les ouvrages du père d'HIPPOCRATE. A cette époque, seule la forme la plus grave et la plus avancée de la tuberculose pulmonaire aiguë était reconnue [15,17].
- Avicenne (Ibn-Sina : 980- 1037): médecin de l'ancienne Perse a déclaré sa perception de la nature contagieuse de la tuberculose durant le II^{ème} siècle (l'an 1020) [18].

La tuberculose au XIX^{ème} siècle

- Le mot de « tuberculose » (composé d'un nom latin et d'une terminaison grecque) pour désigner cette maladie a été employé pour la première fois en 1834, par un allemand Johann Lucas SCHÖNLEIN (1793-1864) [15].
- En 1865, Jean Antoine VILLEMIN (1827-1892) a démontré la contagiosité de la tuberculose [16].

C'est durant ce siècle que la **tuberculose cutanée** à été décrite sous toutes ses formes :

- Dés 1808 WILLAN et BATEMAN ont individualisé les premiers, une maladie dénommée « lupus » qu'ils classèrent dans l'ordre des tubercules [19]. Malgré les imprécisions si fréquentes en Dermatologie le « lupus vulgaire » avait bénéficié de multiples descriptions qui le firent mieux connaître et mieux individualiser. Des

dermatologues, fins cliniciens ont décrit le lupome, lésion élémentaire du lupus vulgaire qui prend sous l'effet de la vitro-pression la teinte de la "gelée de pomme" ou du "sucre d'orge" [20,21]. La première description du **lupus vulgaire** a été établie par ERASMUS WILSON en 1865 [22].

- Le scrofuloderme a été individualisé par des auteurs français sous le nom de gomme scrofuleuse [23].

- En 1826 LAËNNEC (1781-1826) a décrit grâce à ses constatations anatomiques, la fréquence des localisations extra-pulmonaires : les atteintes osseuses, rénales, et surtout les **écrouelles** (ou adénites suppurées), ainsi que la tuberculose verruqueuse : **verru du prosecteur de Laënnec** [7,8].

- En 1855, l'**érythème induré de Bazin** qui est un syndrome anatomo-clinique a été décrit chez des scrofuleux [8].

- En 1868, HEBRA a identifié pour la première fois le **lichen scrofulosorum** [8, 24].

- WILLIAM TILBURY FOX (1836-1879) a été le premier à utiliser le terme de **lupus miliaire** pour une forme de tuberculose cutanée en 1878 [25].

- En 1896, DARIER a proposé le terme de **tuberculides** pour désigner les tuberculoses éruptives [24,26-28] sans présence de germes. Plus tard, PAUTRIER a modifié cette notion et a défini les tuberculides papulo-nécrotiques comme des lésions associées à la tuberculose [27-29].

DARIER a établi aussi la première classification de la tuberculose cutanée celle-ci a été suivie par plusieurs autres, dont la plus simple fut celle de **BEYT** (1981) [7,30].

La découverte de Robert KOCH (1843-1910) :

En 1882, il fait la démonstration que la tuberculose est bien causée par une bactérie, le bacille de Koch (BK), en développant des méthodes de cultures et de colorations particulières [15,17].

- En 1883 une méthode définitive de coloration : la méthode de ZIEHL-NEELSEN a été proposée [15,31].

- En 1896, individualisation du bacille tuberculeux bovin *M. BOVIS* du bacille tuberculeux humain *M. TUBERCULOSIS* grâce aux travaux de THEOBALD SMITH [32].

La tuberculose au XX^{ème} siècle

Ce siècle a été marqué par les plus grands progrès dans la connaissance, mais surtout dans le traitement et la prévention de la tuberculose, ce qui a permis de diminuer fortement la prévalence de cette infection surtout dans les pays riches :

- Le bacille de Calmette et Guérin ou BCG :
Albert CALMETTE (1863-1933) et Camille GUERIN (1872-1961), ont essayé de mettre au point un traitement immunologique (un vaccin) de la tuberculose à partir de l'année 1897 [16].
- Invention de nouveaux milieux de culture notamment celui de Löwenstein-Jensen en 1932 [15].
- La méthode de coloration par fluorescence à l'auramine sera proposée en 1937, par Paul HAGEMANN [31].
- Dates de découverte des antituberculeux [33] :
 - ✓ En 1943 découverte de l'activité tuberculostatique de l'acide paramino-salicylique (ou PAS).
 - ✓ En 1944 découverte de la streptomycine.
 - ✓ En 1945 utilisation conjointe de la streptomycine et du PAS.
 - ✓ En 1952 découverte de l'isoniazide.
 - ✓ En 1961 découverte de l'éthambutol.
 - ✓ En 1965 invention de la rifampicine.
- En 1968 découverte d'une variété africaine de bacille tuberculeux, le *M. africanum* [32,34].
- En 1998, l'Institut Pasteur (France) et le Sanger Center (Royaume-Uni) ont séquencé le génome de *Mycobacterium tuberculosis*. Il compte 4 411 529 paires de bases et environ 4 000 gènes [35-37].

I.2. CLASSIFICATION ET PROPRIETES DES MYCOBACTERIES

I.2.1. Classification et nomenclature des mycobactéries

Le terme *Mycobacterium* provient de deux racines empruntées au grec « Myces » pour champignons et « Bakterion » petit bâton. En fait, ces bactéries n'ont en commun avec les champignons que leur propension à se développer en s'étalant à la surface des milieux liquides [6,15] (Figure 1).



Figure 1 : Aspect de cordes à la culture sur un milieu liquide [38].

L'assemblage filamenteux en forme de cordes à la culture en milieu liquide dû au cord factor (dimycolate de tréhalose) [39] visible après coloration de Ziehl Neelsen.

Les bactéries du genre *Mycobacterium* appartiennent à la famille des *Mycobacteriaceae* classée dans l'ordre des *Actinomycetales* (Figure 2) dont le pseudomycelium rudimentaire se présente habituellement sous forme de petits bacilles, immobiles, non sporulés ayant parfois des éléments renflés, cunéiformes ou ramifiés. Ces bactéries sont caractérisées par une propriété tinctoriale particulière : l'aptitude à conserver la coloration malgré l'action combinée de l'alcool et des acides dilués : elles sont dites acido-alcool-résistantes [6,15]

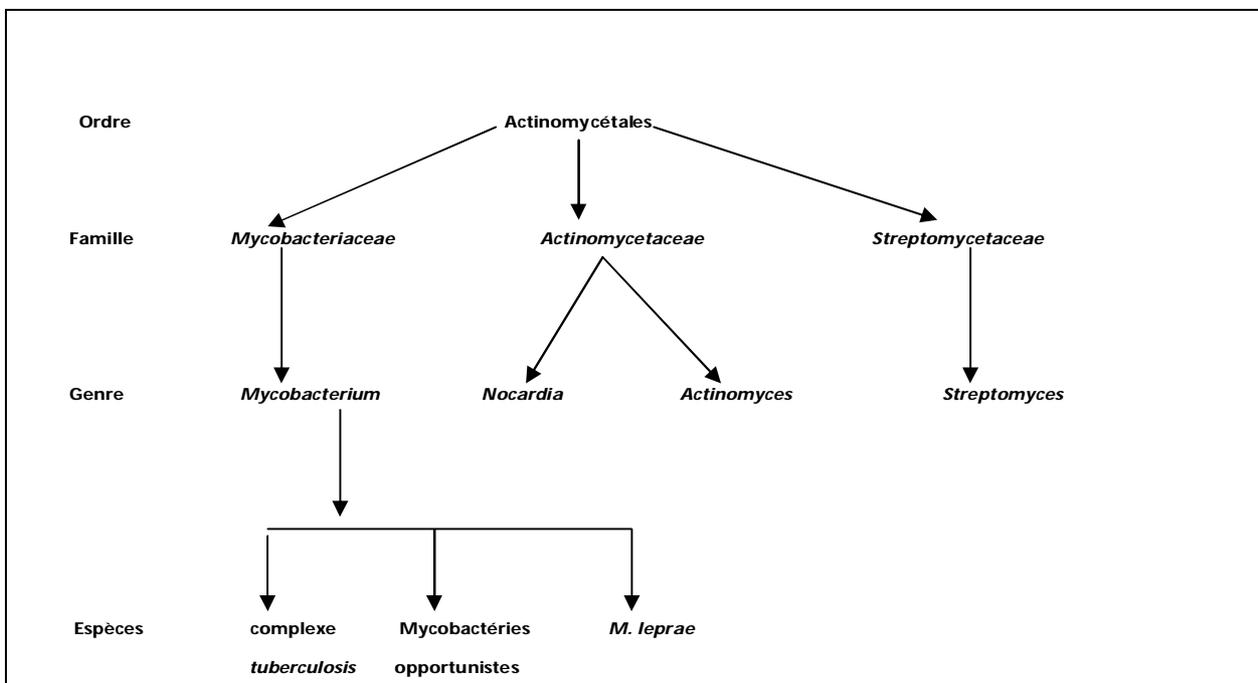


Figure 2 : Filiation taxonomique des mycobactéries [6].

Plus d'une centaine d'espèces de mycobactéries sont dénombrées [9]. La famille des mycobactéries regroupe deux types d'agents en fonction de leur pouvoir pathogène pour l'homme [40] (Figure 2) :

- Les mycobactéries parasites strictes de l'homme et des animaux. Cette première catégorie inclut *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. BCG bovis*, *M. microti*, *M. leprae*, *M. lepraemurium* et *M. paratuberculosis*.
- Les mycobactéries commensales ou saprophytes beaucoup plus nombreuses. On les nomme aussi mycobactéries atypiques. Certaines d'entre elles sont pathogènes facultatives ou opportunistes.

Une autre classification distingue trois grandes catégories de mycobactéries.

I.2.1.1. Mycobactéries tuberculeuses (MT)

Elles sont parasites strictes de l'homme et/ou des animaux. Elles sont représentées par le complexe *M. tuberculosis* responsable des tuberculoses humaines et animales.

Les techniques de biologie moléculaire notamment l'hybridation ADN/ADN a démontré que *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* et *M. microti* appartiennent en fait à la même espèce génomique. En effet le séquençage de gènes comme ceux codant pour l'ARN 16 S ribosomal ou pour la protéine 65 k-Da ne distingue pas les différentes espèces de bacilles tuberculeux, qui peuvent être considérées comme des sous-espèces, d'où la création du complexe *M. tuberculosis* (notion induite par Runyon en 1981). De nombreux auteurs considèrent qu'on est en présence d'une seule espèce présentant des variantes humaines et bovines.

Le complexe *M. tuberculosis* est constitué de [6,15] :

- *M. tuberculosis* [synonyme : bacille Koch : BK ou bacille tuberculeux humain (Zopf, Lehman et Neuman, 1896)] : agent principalement de la tuberculose humaine.
- *M. bovis* (Karison et Lessol, 1970) : agent principalement de la tuberculose bovine. *M. bovis* peut contaminer d'autres mammifères notamment les humains par ingestion de lait cru ou par inhalation de particules infectées, surtout dans les étables.
- *M. bovis* BCG [synonyme : bacille de Calmette et Guérin (Calmette et Guérin, 1921)], bacille du seul vaccin disponible à l'heure actuelle en matière de prévention de la tuberculose humaine.

- *M. africanum* (Castets, Rist et Boisvert, 1969) : intermédiaire entre les deux précédents et responsable de tuberculose humaine principalement en Afrique noire.
- *M. microti* (Wells, 1937) : agent de la tuberculose du campagnol (également des cobayes et des lapins), mais non pathogène pour l'homme.

I.2.1.2. Mycobactéries non tuberculeuses cultivables in vitro

Les mycobactéries atypiques regroupent toutes les mycobactéries autres que les mycobactéries de la tuberculose et de la lèpre. Elles sont à l'inverse des précédentes des micro-organismes ubiquitaires : ce sont des germes de l'environnement, elles sont isolées au niveau de l'eau (eaux potables ou d'égout), du sol, de la terre, du fumier et dans divers aliments (lait, végétaux) [41].

Eventuellement bactéries pathogènes opportunistes, elles sont responsables d'infections localisées, voire généralisées (*M. avium-intracellulare*) chez le sujet immunodéprimé (ex : sujets atteints de SIDA ou ayant reçu un traitement immunosuppresseur au long cours), profitant d'un terrain fragilisé elles sont responsables de pathologies appelées mycobactérioses [42]. Elles peuvent être isolées également chez de nombreux animaux [15].

Elles regroupent un grand nombre d'espèces (une soixantaine), ce nombre s'accroissant avec la description récente de nouvelles espèces [41].

Leur chef de file est actuellement le complexe *M. avium-intracellulare-scrofulaceum* composé de 31 sérotypes incluant *M. avium* var *paratuberculosis*.

Leur classification est basée sur leurs propriétés tinctoriales, leur vitesse de croissance (classification de Runyon 1959) ou sur leur pouvoir pathogène (classification de Wolinsky 1979) [15].

I.2.1.3. Mycobactéries non tuberculeuses, non cultivables in vitro [15]

Ce sont les mycobactéries responsables des lèpres humaines et animales.

- *M. leprae* [ou bacille d'Hansen (1879)] responsable de la lèpre de l'homme.
- *M. lepraemurium* [ou bacille de Stefansky] responsable de la lèpre du rat.

I.2. 2. Caractères bactériologiques de *Mycobacterium tuberculosis*

I.2.2.1. Habitat

Cette bactérie est un pathogène strict et spécifique de l'homme. Par ailleurs elle est capable d'infecter certaines espèces animales vivant à ses côtés (chien, et plus rarement chat, perroquet, canaris....) [43].

Le *Mycobacterium tuberculosis* n'est pas présent dans l'environnement sauf en cas de contamination accidentelle des produits par l'homme infecté [42].

I.2.2.2. Caractères morphologiques

M. tuberculosis est un bacille fin (sous forme de bâtonnet), légèrement incurvé, mesurant 2 à 5 µm de long sur 0,2 à 0,3 µm de largeur, ses extrémités sont arrondies. Il est immobile, incapable de former des spores, conidies ou capsules [44]. Dans les produits pathologiques, il se présente isolé ou en petits amas, parfois sous forme d'ébauches de cordes et de torsades.

Les formes coccoïdes ou, au contraire très longues avec ramifications apparentes, sont très rares [38,45].

I.2.2.3. Constitution chimique et antigénique

I.2.2.3.1. Richesse en lipides

Comme toutes les mycobactéries, elles sont constituées d'une grande quantité de lipides (les cires) : ceux-ci représentent environ 60 % de leur paroi [46]. La structure de base est représentée par un peptidoglycane lié d'une manière covalente avec un lipopolysaccharide : le mycolate d'arabinogalactane. Les sucres qui le constituent sont l'arabinose et le galactose attachés par des liaisons esters à des lipides spéciaux : les acides mycoliques [46,47].

Ces acides mycoliques sont d'énormes molécules d'acides gras ramifiés de 60 à 90 atomes de carbone : ce sont ces acides mycoliques qui confèrent aux mycobactéries leurs propriétés acido-résistantes [47].

D'autres glycolipides sont associés à la paroi des mycobactéries : le cord factor (qui est un dimycolate de tréhalose) (Figure 1) et les mycosides (qui sont des glycolipides et peptidoglycolipides) [47,48].

L'agencement des principaux constituants de la paroi de *M. tuberculosis* peut se concevoir de la manière suivante : au-delà de la membrane cytoplasmique, le peptidoglycane forme la structure de base. Ensuite vient le polymère d'arabino-

galactane qui rattache le peptidoglycane aux acides mycoliques qui sont situés dans la partie la plus externe de la paroi (Figure 3) [48] : c'est à ce niveau externe que sont dispersés les dimycolates de tréhalose [49].

NB : Cette structure complexe explique la particulière résistance aux agents physiques et chimiques ainsi que l'acido-alcool-résistance du bacille tuberculeux.

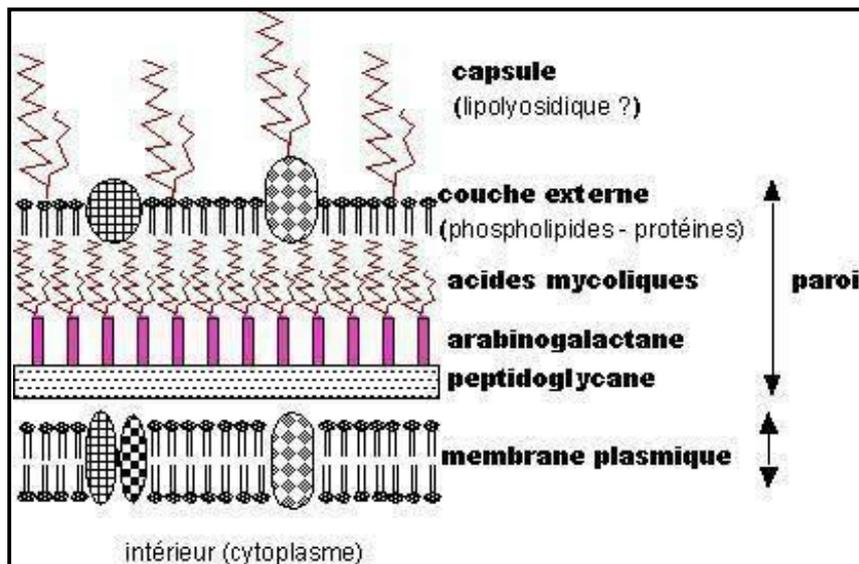


Figure 3 : Structure de la paroi des Mycobactéries [48].

Le squelette de la paroi est composé de **peptidoglycane** relié de façon covalente à un hétéroside, l'**arabinogalactane**, lui même estérifié par des **acides mycoliques**, acides gras particuliers à très longue chaîne (76 à 90 atomes de C, ramifiés, hydroxylés, avec des cycles propanes...). Ils forment alors des **cires** [48].

1.2.2.3.2. Propriété d'acido-alcool-résistance [46,49]

Grâce à leur forte hydrophobicité, les mycobactéries se distinguent par leur capacité à garder certaines colorations, c'est-à-dire à retenir certains colorants lipophiles (fuchsine, auramine) même en présence d'agents solubilisants de ces molécules : l'acide et l'alcool. Cette propriété est en particulier due à leur capacité à synthétiser les acides mycoliques et à la richesse de leur paroi en éléments lipidiques.

NB : une acido-alcool-résistance partielle existe chez des germes capables de synthétiser ces acides mycoliques (Nocardia, Corynebacterium).

I.2.2.3.3. Application aux colorants de Ziehl-Neelsen et ses dérivés [44]

C'est la méthode la plus rapide et la moins coûteuse, mais peu spécifique.

-Coloration de Ziehl-Neelsen

C'est la coloration de référence. Elle utilise la fuchsine phéniquée à chaud suivie d'un traitement par un acide fort et par l'alcool (voir chapitre II).

Les mycobactéries ou bacilles acido-alcool-résistants (B.A.A.R.) conservent la coloration rouge vif de la fuchsine sur le fond bleu de la préparation : les autres cellules et bactéries apparaissent en bleu (Figures 4a et 4b).



Figure 4a [50]

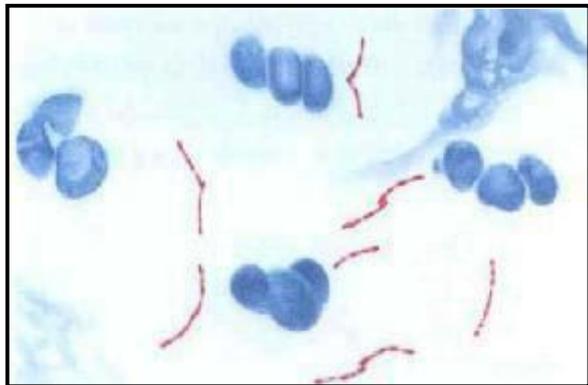


Figure 4b [51]

Figures 4 : Aspect des B.A.A.R. à la coloration de Ziehl Neelsen (Figures 4a et 4b).

La coloration de Ziehl Neelsen montre des bâtonnets colorés en rouge par la fuchsine (correspondant à des B.A.A.R.) apparaissant sur un fond bleu.

- Coloration de Kinyoun

Elle est basée sur le même principe, mais elle est réalisée à froid.

- Coloration à l'auramine phéniquée

L'auramine se fixe à froid sur les mycobactéries et les rend fluorescentes lors d'une exposition à la lumière ultraviolette, malgré les actions décolorantes de l'acide et de l'alcool. Le contre colorant est le rouge thiazine (voir chapitre II).

Les bacilles apparaissent alors jaune-vert brillant sur fond rouge (Figure 5).



Figure 5 : Coloration à l'auramine [38].

Les B.A.A.R. apparaissent jaune-vert brillants sur fond rouge.

I.2.2.4. Propriétés physiques et chimiques (résistance dans le milieu extérieur)

I.2.2.4.1. Action des agents physiques [42]

M. tuberculosis est très sensible à certains agents physiques : chaleur, lumière solaire, rayon X ou UV.

Par ailleurs il résiste bien au froid et à la dessiccation : il peut demeurer vivant plusieurs jours dans les produits contaminés tels que les produits d'expectorations. De même, au réfrigérateur à 4°C, le bacille tuberculeux n'est pas affecté dans sa viabilité et à -70°C il se conserve longtemps.

I.2.2.4.2. Action des agents chimiques [15]

Les acides mycoliques confèrent au *M. tuberculosis* une faible sensibilité à de nombreux agents chimiques, tels que les acides et bases dilués (H₂SO₄, NaOH), détergents divers.

En revanche, il est tué rapidement par de l'alcool à 70°. Une suspension de bacilles tuberculeux est stérilisée en 5 minutes par de l'alcool à 90°.

NB : la résistance à l'alcool ne concerne donc que la coloration de Ziehl

I.2.2.5. Caractères cultureux

La lenteur de croissance des mycobactéries (division par deux toutes les 20 heures environ) impose l'utilisation de milieux spéciaux pour leur isolement. En effet,

Le *M. tuberculosis* se caractérise par ses exigences de culture et sa lenteur de croissance[6] :

- aérobic stricte, toute diminution de l'apport en oxygène entrave sa culture.
- la température optimale de croissance est de 35 à 37 °C. En dessus de 40°C et en dessous de 30°C, sa croissance est inhibée.
- le PH des milieux de cultures peut être compris entre 4,8 et 8 avec un optimum vers 6,7.

Le *M. tuberculosis* ne pousse pas sur les milieux ordinaires.

Les milieux de culture sont répartis en :

- milieux solides à l'œuf et semi-synthétiques.
- milieux liquides avec ou sans indicateur de croissance.

1.2.2.5.1. Milieux solides [15]

- A l'œuf

Le milieu le plus utilisé est le milieu de Löwenstein-Jensen (L-J). Il se compose de sels minéraux, de l'asparagine, de glycérol, de vert malachite (antiseptique) et de sérum d'œuf. Il est solidifié par coagulation à 85°C pendant 40 - 50 minutes.

D'autres milieux dérivés existent :

- . le Löwenstein medium Gruft contient des agents sélectifs supplémentaires.
- .le milieu de Colestos contient du pyruvate de sodium mais moins de glycérol.

Aspect des colonies : lors d'un prélèvement pauvre en bacilles, les colonies apparaissent en 2 à 3 semaines. D'abord minuscules, arrondies, de surface lisse et de teinte blanchâtre, elles peuvent prendre en se développant un aspect sec verruqueux, en chou-fleur, tandis que leur surface devient franchement rugueuse et que leur teinte vire du crème-beige au chamois, les colonies peuvent atteindre un diamètre de 5 à 10 mm (Figures 6a et 6b). On dit des colonies de *M. tuberculosis* qu'elles sont eugoniques (par rapport aux petites colonies aplaties à surface luisante de *M. bovis* dites dysgoniques). Cet aspect eugonique en chou-fleur ne s'observe que sur le milieu de Löwenstein-Jensen à condition que l'hydratation et l'aération soient satisfaisantes.



Figure 6a [50]



Figure 6b [52]

Figures 6 : Aspect des colonies du *Mycobacterium tuberculosis* à la culture sur le milieu de Löwenstein-Jensen (Figures 6a et 6b).

Sur le milieu de Löwenstein-Jensen les colonies du *Mycobacterium tuberculosis* peuvent apparaître dès la 2^{ème} - 3^{ème} semaine, d'apparence rugueuses et de couleur beige crème ou chamois.

-Milieux solides semi-synthétiques gélosés

Ils dérivent du milieu de Middelbrook. Comme ils sont transparents, les colonies examinées à la loupe binoculaire peuvent être détectées plus tôt que sur les milieux à l'œuf (Figure 7) [15].



Figure 7 : Colonies de *M. tuberculosis* sur milieu de culture gélosé [53].

I.2.2.5.2. Milieux liquides [6,15,54-56]

- Milieu 7H9 classique :

C'est un milieu de choix pour la préparation de suspensions homogènes de bacilles tuberculeux pour les travaux expérimentaux (numération bactérienne, ensemencement d'un nombre précis de bacilles). On ne l'utilise pas pour la primoculture mais uniquement pour les tests d'identification biochimique.

- Milieux 7H12B et 7H13A (adaptés aux hémocultures : 3 ml de sang prélevé sur anticoagulant) :

Ces milieux utilisent des produits radioactifs comme de l'acide palmitique marqué au carbone 14. Les mycobactéries qui utilisent ce substrat pour leur croissance, rejettent du CO₂ radio marqué (¹⁴CO₂) dans l'enceinte confinée du flacon hermétique (voir le chapitre II).

Milieux liquides avec indicateur de croissance :

°Le MGIT (Becton Dickinson) pour mycobacteria *Growth indicator tube* : basé sur le principe de la consommation de l'oxygène en rapport avec le développement des mycobactéries (voir le chapitre II).

°Méthode MB /Bact T (Becton Dickinson) : méthode proche de la précédente, détecte l'acidification du milieu corollaire du métabolisme microbien.

°Méthode MB Redox : méthode colorimétrique détectant la diminution de la pression partielle en oxygène (voir le chapitre II).

I.2.2.5.3. Utilisation de ces différents milieux de culture [15]

En principe, l'ensemencement d'un milieu solide est recommandé (en complément d'un ensemencement sur milieu liquide), du fait des risques accrus de contamination plus important avec les milieux liquides (malgré la présence d'antibiotiques sélectifs) et de la croissance difficile de certaines souches sur ces milieux.

Les milieux solides et liquides sont observés tous les jours pendant les premières semaines puis les lectures sont espacées. Les milieux solides en tubes sont incubés jusqu'à 100 jours.

I.2.2.6. Caractères biochimiques – produits élaborés – identification des mycobactéries [15,53] (Tableau I)

I.2.2.6.1. Synthèse de niacine (ou acide nicotinique)

De tous les bacilles du genre *Mycobacterium*, le *Mycobacterium tuberculosis* est le seul à accumuler sans l'utiliser une quantité importante de niacine. D'où l'application du niacine-test pour l'identification des mycobactéries, notamment pour la différenciation des espèces. Ce test doit se réaliser sur des cultures abondantes de 4 à 6 semaines.

Il est positif pour *M. tuberculosis*. Toutefois, un faible pourcentage de souches de *M. tuberculosis* a un niacine-test négatif.

Par contre, les souches de *M. bovis* ont toujours un test négatif. Celles de *M. africanum* sont parfois faiblement positives, et plus fréquemment certaines souches de mycobactéries atypiques (comme *M. simiae*, *M. chelonae* variété niacinogène).

I.2.2.6.2. Présence d'une nitrate-réductase

Le test de réduction des nitrates a mis en évidence la faculté de réduire les nitrates en nitrites du *M. tuberculosis*, grâce à une nitrate-réductase constitutive. Cette propriété est commune à beaucoup d'autres mycobactéries. Par ailleurs, elle est absente chez les autres bactéries du complexe *M. tuberculosis* telles que le *M. bovis* et le *M. africanum*.

I.2.2.6.3. Activité catalasique

Toutes les mycobactéries sont douées d'une activité catalasique. Celle de *M. tuberculosis* et encore plus celle de *M. bovis* et *africanum*, sont d'intensité moyenne si on les compare à la forte activité de celles de nombreuses mycobactéries atypiques.

Surtout elle est détruite par chauffage à 68°C pendant 20 minutes (elle est dite thermolabile ou thermosensible) alors qu'elle résiste chez toutes les autres mycobactéries atypiques exception faite pour le *M. gastri* et *M. malmoense*.

Il a été démontré que les souches de *M. tuberculosis* devenues résistantes à l'isoniazide ont une activité catalase réduite. On retrouve ce caractère chez *M. africanum* qui possède une activité catalasique thermolabile. Celle-ci devient faible ou nulle lorsqu'une résistance à l'isoniazide existe.

I.2.2.6.4. Résistance à l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxilique et sensibilité au pyrazinamide

M. tuberculosis est résistant à l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxilique (TCH) et sensible au pyrazinamide.

M. bovis et *M. africanum* sont quant à eux sensibles au TCH.

I.2.2.6.5. Présence d'une uréase, d'une nicotinamidase et d'une pyrazinamidase

Le *M. tuberculosis* et le *M. africanum* possèdent ces trois enzymes. Par contre le *M. bovis* ne possède qu'une uréase.

Tableau I. Caractères d'identification des bacilles du complexe *tuberculosis* [15, 55].

Espèces de mycobacteries	aspect des colonies	croissance favorisée	TCH 2mg /l	PZA 200mg/l	CS 30mg/L	Nitrates* réductase	Niacin Test
tuberculosis	eugonique rugueux en chou-fleur crème-beige	-	R	S	S	+	+
africanum	dysgonique rugueux plates mates avec un bourgeon central	+	S(v)	S	S	-(v)	(v)
bovis	dysgonique lisse hémisphériques blanches	+	S	R	S	-	-
bovis var BCG	eugonique rugueux en chou-fleur crème-beige	-	S	R	R	-	-

*Méthode de Vitranen, TCH : hydrazide de l'acide thiophène2 carboxylique, PZA : pyrazinamide, CS : cyclosérine , V : variable, R : Résistant, S : sensible.

I.2.3. Pouvoir pathogène [15]

Le pouvoir pathogène s'exprime par le développement d'une maladie plus ou moins chronique définie par une atteinte constante des tissus du système des phagocytes mononuclées et l'évolution d'une lésion quasi-spécifique : le follicule tuberculeux.

Il est variable dans les conditions naturelles selon le type de bacille, la nature de l'hôte et selon la nature des diverses souches : très pathogènes, moyennement pathogènes ou atténuées.

I.2.3.1. Pouvoir pathogène naturel

Le début commence par l'arrivée, le plus par inhalation, de quelques bacilles dans les alvéoles pulmonaires. Ces bacilles sont aussitôt phagocytés par les macrophages et selon l'importance de leur multiplication à l'intérieur de ceux-ci, l'infection tuberculeuse évoluera vers la maladie ou restera latente.

I.2.3.2. Pathogénie

Le pouvoir pathogène d'un organisme est du à la faculté de multiplication (virulence) et à l'aptitude à libérer divers facteurs toxiques.

Le *M. tuberculosis* ne libérant au cours de sa multiplication aucune substance toxique, son pouvoir pathogène est fonction de sa virulence.

Les bactéries sont capables de se multiplier en milieu extracellulaire mais sont aussi capables de survivre ou de se multiplier dans le cytoplasme des macrophages de l'organisme hôte. Leur temps de régénération est long (environ 20 heures dans les conditions optimales de croissance). Leur multiplication est plus intense dans les organes bien oxygénés comme le poumon, le rein et l'épiphyse osseuse.

I.2.4. Pouvoir antigène [6,15,47] (Figure 9)

Sont considérés comme facteurs de virulence, les polysaccharides situés au niveau de la paroi du *Mycobacterium tuberculosis* à savoir le lipomannane, et surtout le lipoarabinomannane qui inhiberait, au niveau des macrophages, la présentation des antigènes aux lymphocytes T et diminuerait la production de tumor necrosis factor (TNF).

Le pouvoir antigène s'exprime in vivo par la formation d'anticorps précipitants, agglutinants, fixant le complément. Il est lié à la présence de molécules diverses

(en plus des polysaccharides, des protéines et des peptides (tuberculines mycobactines), des phosphatides...) qui, une fois extraites des corps bactériens, peuvent être utilisées dans les réactions sérologiques.

I.2.5. Pouvoir allergène et immunogène

I.2.5.1. Phénomène de Koch [15, 57]

I.2.5.1.1. Description du phénomène

- L'inoculation à un cobaye sain de bacilles tuberculeux virulents provoque l'apparition d'un nodule au point d'inoculation au bout du 10^{ème} au 14^{ème} jour qui finit par s'ulcérer. Cette ulcération persiste jusqu'à la mort de l'animal.
- Chez un cobaye tuberculeux, l'inoculation est suivie de l'apparition en 24-48 heures d'une lésion inflammatoire et nécrotique. Elle atteint un maximum en 72 heures puis régresse et guérit, sans que l'évolution de la maladie sous-jacente soit affectée.
- Expérimentalement cette hypersensibilité est d'autant plus forte et plus rapide que la virulence et la multiplication bacillaire sont plus importantes.

I.2.5.1.2. Conclusion

Cette réaction nécessite 24-48 heures pour se produire. Il s'agit d'une hypersensibilité retardée. On l'appelle également allergie tuberculique ou hypersensibilité tuberculique. Ce délai nécessaire au développement de la réaction correspond au temps exigé par la mobilisation des cellules réactives qui affluent au site d'inoculation.

I.2.5.2. Pouvoir allergène (réaction d'HSR et application à la tuberculation) [15]

Le pouvoir allergène s'exprime par le développement d'une réaction d'hypersensibilité retardée (HSR) décelable grâce à des tests in vitro (test de transformation lymphoblastique, inhibition de la migration des macrophages) et à des tests in vivo (intradermo-réaction à la tuberculine).

Il est lié essentiellement à la présence dans le corps bactérien de protéines qui peuvent être extraites par diverses méthodes et qui entrent dans la composition de la tuberculine.

Ce sont les cires D qui sont responsables du caractère retardé de l'hypersensibilité, et notamment à l'intérieur de celles-ci, c'est le peptidoglycane qui joue un rôle essentiel et en particulier sa partie active le muramyldipeptide (MDP) [57].

I.2.5.3. Pouvoir immunogène : immunité de réinfection

Comme le montre le phénomène de Koch, l'immunité antituberculeuse est une immunité de réinfection. Elle est à médiation cellulaire et consiste en une activation des macrophages par des lymphocytes T sensibilisés spécifiquement aux antigènes du bacille tuberculeux [15,58].

Cette immunité apparaît en même temps ou peu après l'hypersensibilité et persiste après l'effacement de l'allergie tuberculique [59].

Cette immunité n'est pas parfaite [15,58] :

- elle inhibe la multiplication des bacilles de la primo-infection.
- elle n'empêche pas la multiplication des bacilles et le développement d'une tuberculose clinique chez certains individus infectés.

Les bacilles vivants sont les bacilles les plus immunisants. Les extraits bacillaires et les bacilles morts ont un pouvoir immunisant très réduit.

I.2.5.3.1. Application à la vaccination

Le BCG est le bacille vivant le moins pathogène et le plus immunisant. Il permet l'installation d'une immunité de réinfection. Les individus vaccinés et infectés secondairement par *M. tuberculosis* pourront faire une tuberculose clinique mais les symptômes seront moins graves [15,59].

I.2.5.3.2. Réponse immune anti-tuberculeuse

I.2.5.3.2.1. Introduction

Chez 90% des individus infectés par des mycobactéries, l'infection est contrôlée et la maladie reste latente. Durant cette phase, les bactéries restent confinées dans les granulomes, ce qui empêche leur dissémination. Il existe un écosystème unique où la croissance bactérienne reste en équilibre avec les mécanismes effecteurs antibactériens de l'hôte (la multiplication de la bactérie est inhibée). Il s'agit d'une structure dynamique, où les cellules immunitaires sont constamment renouvelées.

Les réponses immunes innée et adaptative impliquent des mécanismes différents et coopératifs [47] (Figure 8).

Chez les personnes ayant une immunité cellulaire normale, la réponse immunitaire contre le *M. tuberculosis* est protectrice contre la réinfection [60].

Trois types de cellules sont essentiels à la réponse protectrice à l'égard de cet agent pathogène: les macrophages qui phagocytent le bacille tuberculeux, les lymphocytes T CD4+ qui induisent une réponse protectrice avec synthèse de cytokines de type Th1, notamment d'interféron gamma (IFN γ), et les lymphocytes T CD8+ [58,61].

Le *M. tuberculosis* est un pathogène intracellulaire résidant principalement dans les phagosomes des macrophages et des cellules dendritiques [58,60] (Figure 8). Au niveau des macrophages, les bacilles tuberculeux peuvent survivre et s'y multiplier aboutissant à la destruction des macrophages infectés. Les bacilles libérés sont phagocytés par d'autres macrophages ou des cellules dendritiques. Ces dernières les transportent vers les ganglions lymphatiques régionaux où sont induites la sélection et l'expansion clonale de lymphocytes T et cellules B spécifiques du bacille [47,61] (Figure 8).

Après quelques jours ou quelques semaines, les lymphocytes T spécifiques quittent le ganglion drainant initial et migrent vers le foyer infectieux où ils reconnaissent les antigènes des bactéries tuberculeuses vivantes ou mortes [62]. Les antigènes peptidiques de *M. tuberculosis* sont présentés par les molécules HLA de classe II aux lymphocytes T CD4+, mais aussi par les molécules HLA de classe I aux lymphocytes T CD8+. Les antigènes glycolipidiques sont présentés par les molécules non polymorphiques CD1 à des sous-populations de lymphocytes T CD4+CD8+ et CD4-CD8- [58].

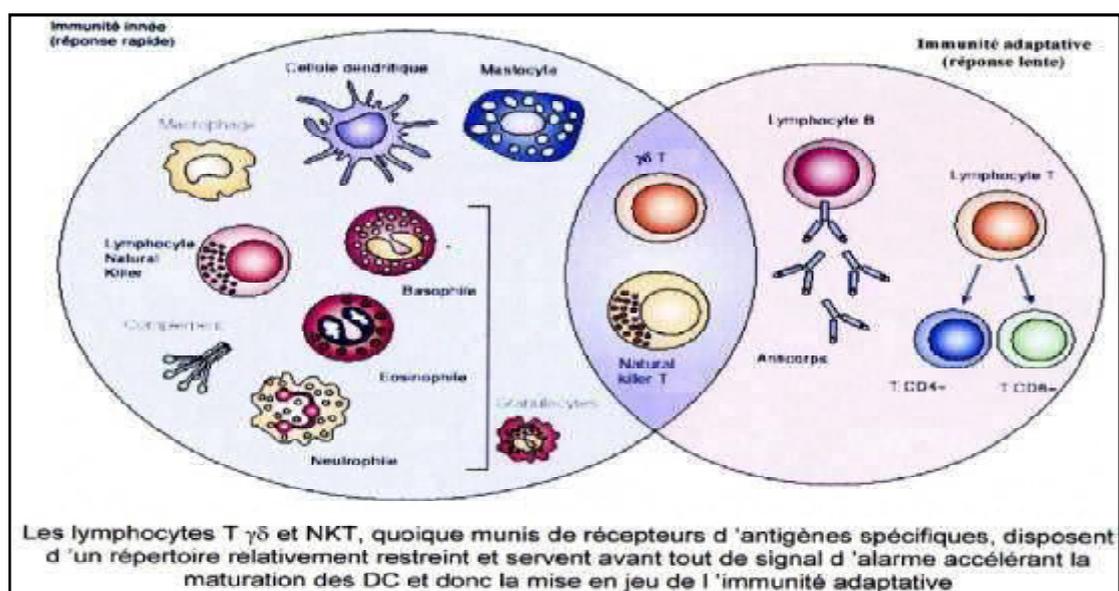


Figure 8 : Type de cellules intervenant dans l'immunité de la tuberculose [61].

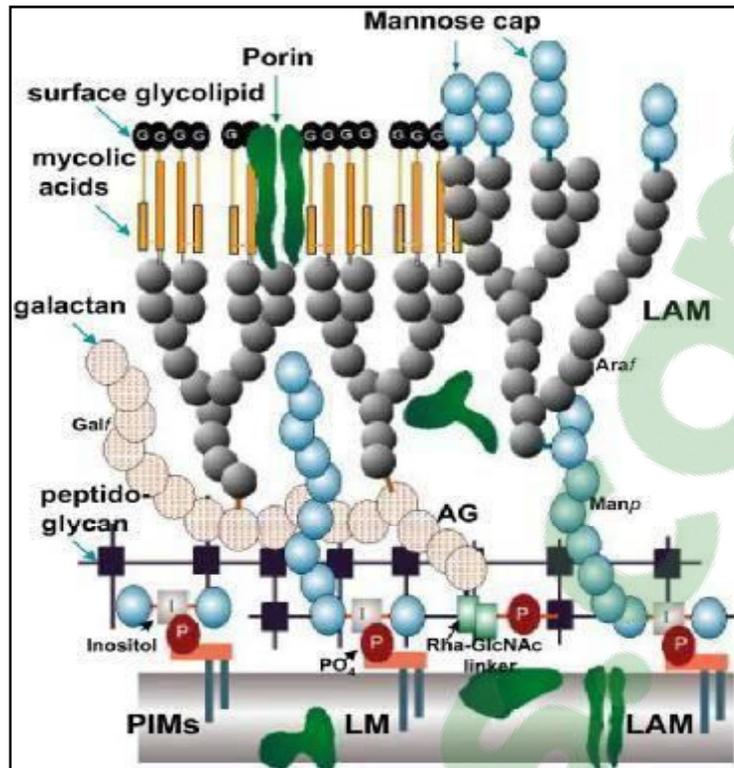


Figure 9 : Principaux constituants de l'enveloppe mycobactérienne en particulier les structures antigéniques (LAM, LM, PIM) (Quesniaux *et al.* 2004) [47].

Bien que l'enveloppe de la plupart des mycobactéries s'aligne sur ce modèle, la structure tridimensionnelle et l'arrangement relatif des constituants majeurs de leur paroi restent encore à élucider. LAM : lipoarabinomannane ; LM : lipomannane ; PIM : phosphatidylinositolmannoside ; Galf : galactofuranose ; Araf, arabinofuranose; manp: mannopyranose, Rha : rhamnose, GlcNAc : N-acétylglucosamine, PO₄ : phosphate [63] ; α-D-Araf-(1→5)-D-Galf, l'unité de liaison de l'arabinane au galactane [64].

Ces mycobactéries sont reconnues par des récepteurs membranaires et solubles : TLRs et NOD2. Ces récepteurs reconnaissent les ligands mycobactériens [58].

Les TLR2, TLR4 et TLR9 sont impliqués dans la reconnaissance de la bactérie entière et de certains produits bactériens : les lipoarabinomannanes, lipomannanes, phosphatidyl-inositol-mannosides et les lipoprotéines 19 k-Da [62]. Le récepteur NOD2 reconnaît le muramyldipeptide (peptidoglycane) (Figure 9).

Les patients ayant une immunodéficience sévère succombent à une dissémination mortelle du BCG. Les sidéens portant une tuberculose latente, présentent un risque accru de développer une tuberculose active [62].

Il a été démontré le rôle d'un allèle dominant prédisposant fortement à la tuberculose localisé dans la région du chromosome 2 contenant le gène NRAMP 1 (Natural Resistance Associated Macrophage Protein 1) [65].

I.2.5.3.2.1.1. Rôle des différentes cellules impliquées et des cytokines produites [62]

a- Au niveau du macrophage :

Le *M. tuberculosis* induit l'augmentation de plusieurs mRNAs codant pour des gènes proinflammatoires tels que TNF.

Il induit aussi la production de hauts niveaux des molécules anti-apoptotiques Bcl-2, qui favorisent la survie de la bactérie.

b- Réponse des cellules T CD8+ :

Les cellules T CD8+ peuvent contribuer à la réponse immune contre le bacille responsable de la tuberculose par :

- Sécrétion d'IFN gamma (IFN γ).
- Lyse des cellules infectées via l'interaction Fas/Fas-ligand ou médiée par les perforines et les granzymes.
- Activité mycobactéricide, mécanisme médié par la granulysine [66].

c- Cytokines [61,62] :

L'infection par *M. tuberculosis* engendre une induction de cytokines dont certaines jouent un rôle dans la résistance telles que les cytokines de type 1 :

- L'IL-12, l'IL-18 et l'IL-23 sont tous d'importants inducteurs d'IFN γ , une des cytokines les plus importantes dans la régulation de la défense anti-bactérienne.
- L'IL-12 et IL-18 favorisent l'activité toxique des cellules NK. Les membres de la famille de l'IL-12 (IL-12, IL-18, IL-23 et IL-27) favorisent la réponse adaptative dirigée par les cellules T.
- L'IL-17 attire et active les neutrophiles, elle est sécrétée par les cellules Th17 et les cellules T gamma téta (Figure 8).
- L'IFN γ est sécrété par les cellules T auxiliaires (en particulier les cellules Th1), les lymphocytes cytotoxiques et les cellules NK (Figure 8). Il joue les rôles suivants :
 - °il augmente la présentation des antigènes et des lysosomes au niveau des macrophages et favorise l'activité des cellules NK et la différenciation de l'immunité Th1 à l'immunité cellulaire cytotoxique.

°il est l'activateur principal des macrophages grâce à son interaction avec ses récepteurs : IFN γ du récepteur 1 (IFNGR1) et IFN γ du récepteur 2 (IFNGR2), il active la voie JAK-STAT (Figure 10) et stimule la production de la syntase de l'oxyde nitrique (NOS-2) responsable de la libération d'oxyde nitrique qui est bactéricide vis-à-vis de *M. tuberculosis*.

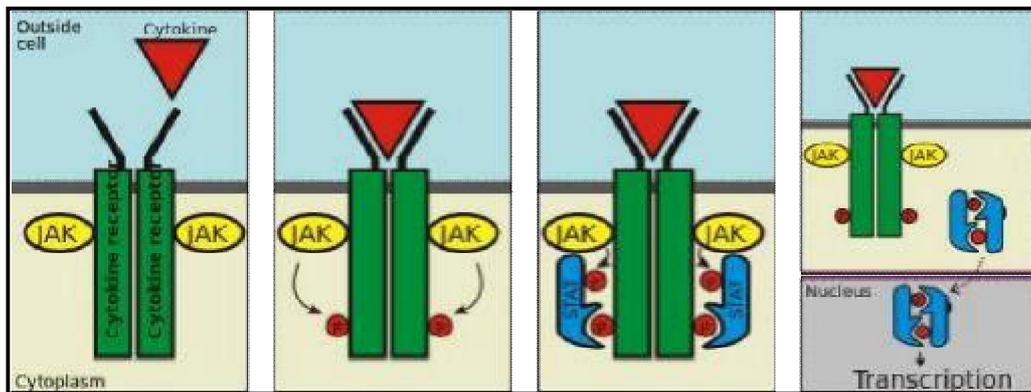


Figure 10 : Voie JAK-STAT [67].

Récemment, il a été démontré par l'équipe de J.L.Casanova qu'une susceptibilité aux mycobactéries chez l'homme serait due à des mutations du gène codant pour une molécule (la protéine ISG15). Sachant que cette molécule est sécrétée en réponse à l'infection mycobactérienne et induit la production d'IFN γ [68].

– Le TNF alpha est une cytokine pleiotropique et comme l'IFN γ peut jouer tant un rôle protecteur qu'immunopathologique durant l'infection.

La fixation des TNF (facteur de nécrose tumoral) sur des récepteurs (TNFR 1 et 2) peut aboutir à :

- l'activation de la voie NF-Kb (inhibition de l'apoptose).
- l'apoptose.
- la nécrose programmée.

Il est libéré par les leucocytes, l'endothélium et d'autres tissus en réponse à une agression, par exemple à une infection. Il attire les polynucléaires neutrophiles, et les aide à adhérer à la paroi des cellules endothéliales, d'où elles sortiront par diapédèse.

Il stimule la phagocytose des macrophages et leur production de molécules pro-inflammatoires.

Il contribue avec l'IFN γ à l'activation des macrophages, la mort des cellules infectées et la formation du granulome.

Les souris déficientes en TNF ou son récepteur, les individus soumis aux thérapies utilisant les antagonistes au TNF- α ont une fréquence de réactivation de tuberculose plus élevée.

- L'IL-10 est produite par les lymphocytes T auxiliaires Th2 et par d'autres cellules (les monocytes, les lymphocytes T régulateurs...) est une cytokine anti-inflammatoire, elle pourrait favoriser l'évasion de la bactérie à la réponse immunitaire adaptative).

I.2.5.3.2.1.2. Formation du granulome [47,69]

Les macrophages activés entourent une zone centrale de nécrose caséuse. Histologiquement l'activation cellulaire se manifeste par la présence d'un cytoplasme granuleux, volumineux, pâle pourvu d'un réticulum endoplasmique abondant et d'un appareil de Golgi important. La ressemblance de ces cellules avec des cellules épithéliales lui a donné le nom de cellules épithélioïdes. La fusion de plusieurs macrophages activés donne naissance à de grandes cellules multinucléées dont les noyaux sont disposés à la périphérie cellulaire, appelées cellules de Langhans. Les macrophages bordent la zone nécrosée, et sont eux même entourés d'une couronne de lymphocytes. La sécrétion de cytokines par les macrophages activés favorise la prolifération des fibroblastes dans la couronne lymphocytaire et en périphérie de celle-ci (Figure 11).

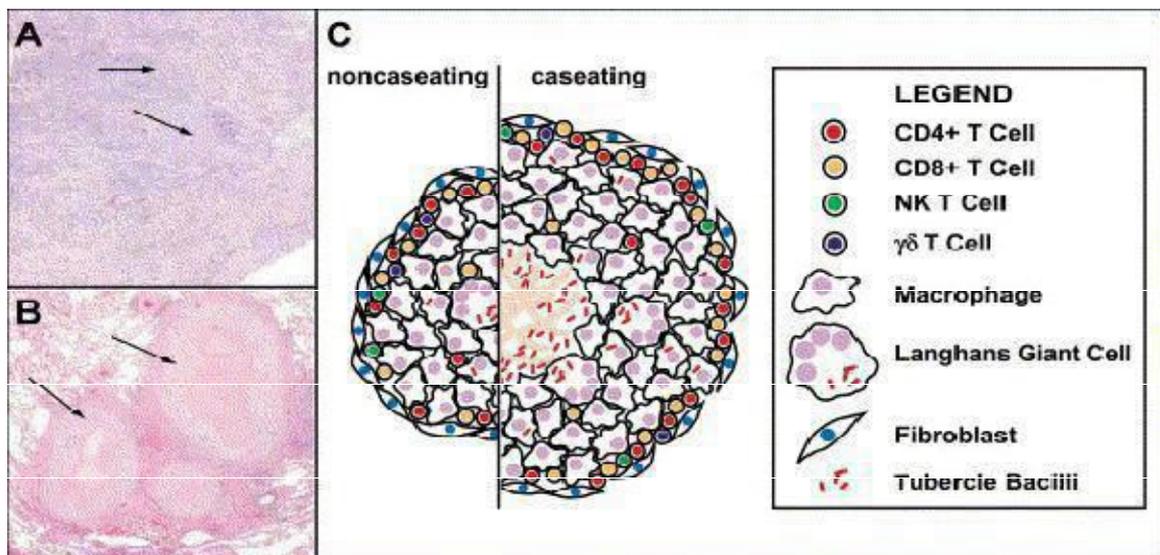


Figure 11 : Structure du granulome mycobactérien.

Images microscopiques (A-B) et diagramme. (C) de granulomes non caséux humains (A et C) et de granulomes caséux humains (B). (Co, Hogan *et al.* 2004) [47]

I.2.5.3.2.1.3. Réponses Th2 [58]

L'IL-4 et d'autres marqueurs de l'activité Th2 tels que les IgE et les IgG4 sont fréquemment trouvés dans une tuberculose avancée. Le changement de profil de sécrétion de cytokines Th1 vers un profil de sécrétion de type Th2 (Interleukine-4 (IL-4), IL-5, IL-10) serait associé à la maladie tuberculeuse à un stade tardif.

I.2.6. Génome de *Mycobacterium tuberculosis* [6]

En 1998, la séquence complète du génome de *M. tuberculosis* H37RV a été réalisée et a permis de confirmer certains caractères propres aux mycobactéries [60]. Le génome 4,5 10⁹ daltons a une teneur en guanine (G) et cytosine (C) élevée : 66 [70]. Cette richesse en guanine et en cytosine s'explique par la fréquence élevée des codons dont le dernier nucléotide est une guanine ou une cytosine, par l'utilisation de codons GTC pour initier 35 % des gènes et par la fréquence élevée des protéines de *M. tuberculosis* en certains acides aminés (alanine (Ala), glycine (Gly), proline (Pro), arginine (Arg) et tryptophane (Trp) codés par des codons riches en (G) et (C).

Comme toutes les mycobactéries à croissance lente, le *M. tuberculosis* possède une seule copie de l'opéron ribosomal et cet opéron est assez éloigné de l'origine de réplication alors que chez les bactéries à croissance rapide, il y a plusieurs copies de cet opéron dont certaines sont proches de l'origine de réplication. 84 % des protéines de *M. tuberculosis* sont comparables à celle des autres espèces bactériennes. Seules 16 % apparaissent spécifiques de *M. tuberculosis*. Environ la moitié des gènes de *M. tuberculosis* sont dupliqués (51%) avec une bonne conservation des séquences.

Plus de 250 gènes sont impliqués dans le métabolisme des acides gras, et la majorité d'entre eux contribuent à l'élaboration de la paroi riche en lipides. Le *M. tuberculosis* est caractérisé par une richesse en cytochromes P450 qui catalysent l'oxydation des composés hydrophobes tels que les acides gras à longue chaîne.

Les différentes souches de *M. tuberculosis* présentent un manque remarquable de diversité génétique, ce qui est exceptionnel chez les bactéries et fait évoquer l'hypothèse de la propagation récente de la tuberculose ou que *M. tuberculosis* constitue une impasse de l'évolution.

Le génome de *M. tuberculosis* est également riche en séquences répétées d'ADN, en particulier la séquence IS 6110 dont on peut trouver jusqu'à 16 copies. Ces séquences d'insertion sont constituées de deux courtes séquences de 30 paires de bases, et encadrent le gène qui code pour la transposase. La position et le nombre de ces séquences sur le génome sont stables pour une souche, mais variable d'une souche à l'autre. Cette particularité a été mise à profit pour développer l'analyse par RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) du génome des souches de bacilles tuberculeux.

D'autres séquences répétées ont été identifiées. Le génome de *M. tuberculosis* contient 65 copies de MIRU (Mycobacterial interspaced repetitive unit) dont la taille varie de 46 à 101 paires de bases [6,35].

Les études moléculaires ont retrouvé un locus de répétition directe DR qui est constitué d'une succession de séquences répétées de 36 paires de bases (pb), séparées par des séquences non répétées de 53 à 41 pb appelées séquences inter DR ou espaceur, dont la composition varie selon les souches. On connaît pour les mycobactéries du complexe *tuberculosis* 51 espaceurs. Leur identification est à la base de la technique appelée spoligotypage [6].

Deux familles de gènes codant les protéines PE (proline (Pro) acide glutamique (Glu) et PPE (Pro Pro Glu) occupent environ 10 % du génome de *M. tuberculosis*. Ces protéines sont associées respectivement aux séquences polymorphiques répétitives de type PGRS (Polymorphic G.C. Rich Repetive Sequences) et MTPR (Major Polymorphic Tandem Repeats), qui sont également présentes chez d'autres espèces de mycobactéries, et se caractérisent par des motifs riches en glycine et en asparagine. Ces protéines pourraient être impliquées dans des phénomènes de variations antigéniques de *M. tuberculosis* et de réplication du bacille tuberculeux dans les macrophages [37].

Quelques gènes susceptibles d'être impliqués dans la pathogénicité ont été reconnus : un opéron codant pour d'éventuelles invasines, des gènes impliqués dans les phénomènes de captation du fer, des phospholipases C, lipases, estérases, cutinases, protéases, qui pourrait agir sur les composants cellulaires ou vésiculaires.

I.3. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

La tuberculose est la deuxième maladie infectieuse au monde après le SIDA, de par le nombre de nouveaux cas. Son incidence augmente à l'échelle mondiale

ces dernières années [10]. La tuberculose cutanée est une forme rare de tuberculose extrapulmonaire. Même si elle est devenue rare dans les pays occidentaux, elle y est toujours décrite. Alors que dans les pays en voie de développement, les cas de tuberculose cutanée sont toujours répertoriés par centaines. Dans la majorité des séries, les deux formes cliniques les plus fréquentes sont le scrofuloderme et le lupus tuberculeux.

I.3.1.Situation épidémiologique de la tuberculose cutanée dans le monde

*Une équipe **espagnole** (Farina et collaborateurs) a colligé 11 cas de tuberculose cutanée [4 scrofulodermes (36,4 %), 2 lupus vulgaires (18,2 %), 2 miliaires (18,2 %), 2 gommes (18,2 %) et 1 inclassable (9,1 %)] recensés durant une période de 14 ans (entre 1981 et 1993), ayant représenté les 0,1 % des consultations en dermatologie et les 2,4 % des formes de tuberculose [71] (Tableau II).

*Une autre étude **espagnole** plus récente établie par JF Garcia-Rodriguez a répertorié 55 cas de tuberculose cutanée sur une période de 15 ans (2001-2005). Cette série se compose de scrofulodermes (32,7 %), de lupus tuberculeux (7,2 %), de gommes tuberculeuses (3,6 %), de tuberculose verruqueuse (3,6 %) et d'érythème noueux tuberculeux (49,1 %) et d'érythème induré de Bazin (3,6 %) [72].

*En 2007, A.M. Ferraris a publié une étude **italienne** rapportant une série de 36 malades atteints de tuberculose cutanée. Il les a répartis en scrofulodermes (plus de 60 %), en formes verruqueuses (15 %), en formes ulcéreuses (10 %), en lupus vulgaire (6 %), en tuberculoses miliaires (5 %) et en tuberculoses primaires ou chancres d'inoculation (4 %) [73].

*Au **Royaume-Uni**, l'équipe de Yates a observé 47 cas de tuberculose cutanée: les scrofulodermes associés aux atteintes ganglionnaires ou ostéoarticulaires, en constituaient plus de la moitié des cas (55,3 %), 6 malades avaient un lupus vulgaire (12,8 %), 4 présentaient des gommes (8,5 %) dont 2 cas dans le cadre d'une miliaire tuberculeuse (4,4 %), un cas de tuberculose orificielle (2,2%) et 10 étaient atteints de formes réactionnelles (21,2 %) dont la moitié de type érythème induré de Bazin (10,5 %), répertoriés dans le district de Blackburn durant une période de 15 ans (entre 1981 et 1995) et représentaient les 4,4 % des formes de tuberculose [74] (Tableau II).

*Dans une série **turque** de 370 patients, les 3,51 % des patients hospitalisés

pour tuberculose, ont des localisations cutanées, avec une fréquence plus élevée pour les scrofulodermes [75].

*Une autre étude **turque** plus récente publiée par S. Akdeniz en 2011, ayant recensé 40 cas de tuberculose cutanée répertoriés durant une période de 10 ans (2000-2009). Cette série a été composée essentiellement de 30 cas (75 %) de lupus tuberculeux et de 10 cas (25 %) de scrofuloderme [76].

*En **Inde** :

- Dans le nord, 402 observations de tuberculose cutanée (parmi elles 75 cas étaient âgés de moins de 16 ans) ont été rapportées durant une période de 25 ans [77] (Tableau II).

- A Mumbai, 291 cas sont rapportés en 10 ans (entre 1991 et 2000) [78] (Tableau II).

*Au **Pakistan** à Larnaka, 153 cas de tuberculose cutanée recensés entre 1996 et 1999 [79] (Tableau II).

* En **chine**, plus précisément à Hong Kong : 2 études différentes ont été publiées :

-60 observations de tuberculose cutanée ont été recueillies par Wong : la forme verruqueuse a été la plus fréquente représentant les 46 % des cas, le lupus vulgaire les 22 % des cas, les tuberculides papulonécrotiques retrouvées dans les 13 % des cas, l'érythème induré de Bazin dans 10 % et le scrofuloderme dans 9 % [80].

-Une autre étude rétrospective a été réalisée par Chong s'étalant sur 10 ans (de 1983 à 1992) toujours à Hong Kong à travers laquelle 176 cas de tuberculose cutanée ont été colligés. Ce nombre représente les 0,066% des consultations en dermatologie, montrant une répartition totalement différente des diverses formes anatomocliniques : les 79,5 % représentés par l'érythème induré de Bazin, les 4% par les tuberculides papulonécrotiques, les 1,7 % par le lichen scrofulosorum, les 4,5 % par la tuberculose verruqueuse, les 4 % par les scrofulodermes et les 6 % par le lupus vulgaire [81] (Tableau II).

*En Afrique du Sud à Medunsa , Visser a observé 92 cas de tuberculose cutanée en 12 ans [82] (Tableau II).

*A **Dakar**, Kane a colligé 151 malades présentant une tuberculose cutanée recensés durant une période de 34 ans (1972-2005). Les formes cliniques retrouvées chez ces malades ont été réparties en: scrofulodermes (84,76 %), gomes (11,25 %),

tuberculoses orificielles (1,98 %), tuberculoses verruqueuses (2,64 %) et BCGites (0,66 %) [83].

Tableau II. Distribution des différentes atteintes cutanées tuberculeuses à travers le monde [7].

Auteurs	Bhutto	Masmoudi	Jerajani	Farina	Yates	Visser	Chong	Kumar
Pays	Pakistan	Tunisie	Inde	Espagne	Angleterre	Sud Afrique	Hong Kong	Inde
Années d'observation	4 ans (1996-99)	20 ans	10 ans (1991-2000)	14 ans (1980-93)	15 ans (1981-95)	12 ans (1980-92)	10 ans (1983-92)	25 ans (1975-99)
Nb cas	153	64	291	11	47	92	176	75
LV (%)	42,2	36	42,6	18,2	12,8	18,75	6,3	40
SFD (%)	35,3	33	30,2	36,4	55,3	16	4	53,3
Gomme (%)		11		18,2	8,5			1,3
TV (%)	19,59		19,9			1	4,5	4
MC (%)				18,2				
TO (%)	3,92				2,2	1		
EIB (%)					10,5	20,8	79,5	
TPN (%)					2,2	39,5	4	1,3
LS (%)						3	1,7	
EN (%)					6,5	1		
Inclassable(%)				9,1				

Abréviations : Nb : nombre, LV : lupus vulgaire, SFD : scrofuloderme, TV : tuberculose verruqueuse, MC : miliaire cutanée, TO : tuberculose orificielle, TPN : tuberculides papulo-nécrotiques, EIB: érythème induré de Bazin, LS : lichen scrofulosorum, EN : érythème noueux tuberculeux.

I.3.2. Situation épidémiologique de la tuberculose cutanée aux pays du Maghreb

*En Tunisie :

- A Sfax, 64 cas sont décrits en 20 ans, soit 0,6% des consultations en dermatologie. La répartition de ces cas, selon les formes cliniques a mis en évidence 36 % de cas de lupus vulgaire et 44 % d'aspect gommeux (33 % de cas de scrofuloderme et 11 % de cas de gommages) [84] (Tableau II).

- A Tunis, l'équipe de K. Hadjlaoui (service de Dermatologie de l'Hôpital Charles Nicolle) a colligé 38 cas de tuberculose cutanée de 1991 à 2002 (représentés par 8 lupus tuberculeux (21 %), 14 écrouelles (36,8 %) , 2 tuberculoses verruqueuses (5,2 %) , une association d'un lupus tuberculeux et d'une écrouelle (2,6 %), 12 réactions spécifiques au BCG (31,5 %) et une forme indéterminée). L'incidence de la tuberculose cutanée est passée de 3 pour 1000 nouveaux consultants de 1970 à 1977 à 0,44 de 1991 à 2002 [85] (Tableau III).

- L'équipe de S. Fenniche (service de Dermatologie de l'Hôpital Habib Thameur) a rapporté 26 observations de tuberculose cutanée recensées sur une durée de 20 ans, avec 11 cas de lupus tuberculeux (42 %), 10 cas de scrofulodermes (38 %), 4 cas de tuberculose verruqueuse (15 %) et un cas de tuberculose anale (4 %) [86] (Tableau III).

- Au niveau du service de Dermatologie de l'Hôpital Farhat Hached de Sousse, M. Denguezli et coll. ont réalisé en 2006 une étude portant sur une série de 33 cas (15 cas de lupus tuberculeux (45,4 %), 12 cas de scrofuloderme (36,6 %), 2 cas de tuberculose gommeuse (6 %), 2 cas de tuberculose verruqueuse (6 %) et 2 cas de tuberculose péri-orificielle (6 %) [87].

- Une deuxième étude faite dans le même service par L. Chenguel et coll. a décrit et analysé une série de 53 cas répertoriés durant une période de 20 ans (de Janvier 1986 à Décembre 2006), dans laquelle le lupus tuberculeux était le plus fréquent (60%), puis le scrofuloderme (30,2 %), la tuberculose verruqueuse retrouvée chez 3 cas (5,6 %), un cas de tuberculose gommeuse (1,8 %) et un cas de chancre d'inoculation (1,8 %) [2] (Tableau III).

*** Au Maroc :**

- Au niveau du service de Dermatologie d'Avicenne de Rabat une série de 43 cas de tuberculose cutanée a été colligée par B. Hassam sur une période de 6 ans (entre 1985 et 1990). Il a été montré une prédominance de la forme verruqueuse (17 cas soit 39,5 %), puis viennent les tuberculides (12 cas soit 27,9 %), les gommages (10 cas soit 23,2 %), et le lupus tuberculeux (4 cas soit 9,3 %) [4].

L'équipe de K. Zohair de Casablanca a recensé une série de 216 cas de tuberculose cutanée (janvier 1981-décembre 2004), durant une période de 24 ans. Cette série a représenté les 2 % parmi 11073 malades hospitalisés pour des pathologies cutanées diverses. Selon les formes cliniques, elle est composée de 72 % de gommages et de scrofulodermes, de 12 % de lupus vulgaire, de 7 % de tuberculose verruqueuse, de 6 % de tuberculides, de 1 % de tuberculose ulcéreuse orificielle et de 1 % de chancre tuberculeux [88] (Tableau III).

En 2011, S. Gallouj a publié une étude prospective monocentrique rapportant 36 cas de tuberculose cutanée recensés à Fes entre Mai 2006 et Juin 2009. Les formes cliniques étaient représentées par le scrofuloderme retrouvé dans 15 cas (42 %), les gommages dans 9 cas (25 %), l'érythème induré de Bazin dans 5 cas (14 %), le lupus tuberculeux dans 3 cas (9 %), la tuberculose orificielle, la

tuberculose verruqueuse et le chancre tuberculeux étaient représentés par un cas chacun (3 %) et un cas exceptionnel d'association d'une tuberculose gommeuse et d'un scrofuloderme [89] (Tableau III).

***En Algérie :**

L'incidence de la tuberculose cutanée est restée stable ces dernières décennies :

- A Alger, l'équipe du professeur Ammar Khodja a colligé une série de 90 cas de tuberculose cutanée durant une période de 5 ans (1994-1998), représentée par 42 cas de lupus tuberculeux (46,6 %), 37 cas de gomme tuberculeuse (41,1 %), 7 cas de formes ulcéreuse ou végétante (8 %), 3 cas de scrofuloderme (3 %) et 1 cas de lupus tumidus (1 %) [1] (Tableau III).

- A Tlemcen, une série de 42 cas a été recensée et analysée sur une période de 10 ans (du début de l'an 1996 au début de l'an 2006), dans laquelle la gomme a occupé la première position, retrouvée chez 11 cas (24,4 %), le scrofuloderme et l'érouelle observés chez 10 cas (22,2 %), le lupus tuberculeux chez 7 cas (15,5 %), 3 cas de forme verruqueuse (7,1 %) et 1 cas de BCGite (2,3 %) [3] (Tableau III).

- A Oran, le service de Dermatologie du centre hospitalo-universitaire d'Oran a recensé 198 cas de tuberculose cutanée sur une période de 21 ans (entre début 1987 et fin 2007). L'aspect clinique prédominant a été représenté par la forme gommeuse (78,7 %) puis le lupus tuberculeux (14,4 %), la tuberculose verruqueuse (2,4%), l'érythème noueux (1,2 %), la tuberculose ulcéreuse orificielle (1,2 %), les tuberculides (1,1 %), l'érythème induré de Bazin (0,6 %) [5] (Tableau III).

Tableau III. Distribution des différentes atteintes cutanées tuberculeuses aux pays du Maghreb.

Auteurs	Hadjlaoui	Fenniche	Chenguel	Gallouj	Zohair	Ammar khodja	Dahmani	Tilmatine
Pays (ville)	Tunis	Tunis	Sousse	Fes	Casablanca	Alger	Tlemcen	Oran
Durée étude	11 ans (1991-2002)	20 ans	20 ans (1986-2006)	3 ans (2006-2009)	24 ans (1981-2004)	5 ans (1994-1998)	10 ans (1996-2006)	21 ans (1987-2008)
Nb cas	38	26	53	36	216	90	42	198
LV (%)	23,6	42	60	9	12	46,6	15,5	14,4
LT (%)						1		
TV (%)	5,2	15	5,6	3			7,1	2,4
SFD + Gommages (%)	39,4	38	32	67	72	44,1	46,6	78,7
TUO (%)		4		3		8		1,2
EIB (%)				14				0,6
Tuberculides(%)								1,2
EN (%)								1,2
BCGites (%)	31,6						2,3	
CI (%)			1,8	3				
FI (cas)	1							

Abréviations : Nb : nombre, LV : lupus vulgaire, LT : lupus tumidus, SFD : scrofuloderme, TV :tuberculose verruqueuse, TUO :tuberculose ulcéreuse orificielle, EIB : érythème induré de Bazin, EN : érythème noueux tuberculeux, CI : chancre d'inoculation tuberculeux, FI : forme inclassable.

I.4. ETUDE CLINIQUE DE LA TUBERCULOSE CUTANEE

Sur le plan cutané, les formes cliniques de la tuberculose sont très nombreuses, et de présentations hétérogènes. La variété des aspects anatomocliniques dépend du nombre et de la virulence des bacilles, de la voie de contamination et de l'immunité de l'hôte [7].

I.4.1. Classifications des différentes formes de la tuberculose cutanée

Plusieurs classifications ont été proposées. La classification de BEYT (1981) [30] basée sur des critères physiopathologiques a été longtemps adoptée [7] (Tableau III).

TAPPEINER et WOLF ont, par la suite, proposé une classification qui a été largement acceptée, basée également sur le mode d'inoculation et le mécanisme de propagation [90-93]. Cette classification a été secondairement renforcée par l'adjonction d'autres critères : la charge bactérienne [91,94,95] (Tableau V), le degré de l'immunité et les résultats de la bactériologie [8] (Tableau VI). En plus de ces critères, sont ajoutés d'autres (le stade primaire ou secondaire de la lésion, l'histologie et l'évolution) [96] (Tableau VII). D'autres auteurs préfèrent la classification qui distingue les formes de tuberculose cutanée vraie des formes réactionnelles [27, 97,98] (Tableau VIII).

Ces différentes classifications reflètent la variation des expressions selon les écoles et selon les régions.

Tableau IV. Classification de la tuberculose cutanée selon Beyt (1981) [7, 30].

I-Source exogène	
Tuberculose d'inoculation	Chancres tuberculeux
	Tuberculose verruqueuse
	Lupus vulgaire (pour certains auteurs)
II-Source endogène	
Tuberculose secondaire	
A-Par contiguïté	Scrofuloderme
B-Par auto-inoculation	Tuberculose orificielle
III-Tuberculose hématogène	Lupus vulgaire (pour certains auteurs)
	Tuberculose miliaire aiguë
	Gomme tuberculeuse
IV-Tuberculose éruptive	Lichen scrofulosorum
Tuberculides	Tuberculides papulaires ou papulo-nécrotiques
	Erythème induré de Bazin
	Vascularite nodulaire

Tableau V. Classification selon la charge bactérienne et le mécanisme de propagation [91, 94,95].

Formes selon la charge bactérienne	Mécanisme de la propagation	Forme clinique
Formes multi bacillaires	Inoculation directe (primo-infection)	Chancres d'inoculation
	Contiguïté	Scrofuloderme Tuberculose orificielle
	Dissémination hématogène	Miliaire tuberculeuse Gomme
Formes pauci bacillaires	Inoculation directe (ré-inoculation)	Tuberculose verruqueuse Lupus tuberculeux (occasionnellement)
	Dissémination hématogène	Lupus tuberculeux
	Formes réactionnelles (réactions immuno-allergiques)	Tuberculides papulo-nécrotiques Lichen scrofulosorum Erythème induré de Bazin Erythème noueux

Tableau VI. Spectre clinico-immunologique de la tuberculose cutanée. Classification selon la charge bacillaire et le degré de l'immunité de l'hôte [8].

E. C.	F. d'inoculation		F. multibacillaires			F. paucibacillaires		F. <<réactionnelles>>	
	Chancres d'inoculation	Tbc ulcéreuse orificielle	Miliaire tuberculeuse	Gommes	SFD	Tbc Verruqueuse	Lupus Vulgaire	Erythème Induré de Bazin	Tuberculides Papulo-nécrotiques
Cultures	+	+	++	+	+	+/-	+/-	-	-
IDRT	-	-	-	-	-	+	+	++	++
Terrain	Nourrisson, jeune enfant	Auto-Inoculation	Immuno-Dépression	Faible immunité	Faible immunité	Sujet déjà Sensibilisé	Réaction	Hyperréactivité cellulaire	

Abréviations: E.C. : entités cliniques, F.: formes, tbc: tuberculose, IDRT: intradermoréaction à la tuberculine, SFD : scrofuloderme.



Tableau VII. Classification selon de nombreux critères (le stade primaire ou secondaire de la lésion, la source, le mode d'infection, l'aspect, l'immunité, la bactériologie, l'histologie et l'évolution) [96].

Stade	Source	Mode	Histologie	Evolution	Aspect	Immunité	Bactério	
Primaire	Exogène	Inoculation	Non spécifique	Localisée	Chancre	Variable	+++	
			TB spécifique	Localisée	PI tbc	Bonne	+ ?	
			TB spécifique	Localisée	Lupus Tbc	Modérée	++	
			TB spécifique	Progressive	TB serpigneuse fongueuse	Faible	+++	
			TB spécifique	Généralisée	TB miliaire	Faible	+++	
Secondaire	Exogène	Réinoculation	TB spécifique	Localisée	TB verruqueuse	Bonne	+/-	
			TB spécifique	Progressive	TB orificielle	Faible	+++	
	Endogène	Contiguïté	TB spécifique	Localisée	Lupus tbc	Modérée	++	
			TB spécifique	Localisée	SFD	Faible	+++	
			TB spécifique	Localisée	TB verruqueuse	Bonne	+/-	
			Auto-inoculation	TB spécifique	Progressive	TB orificielle	Faible	+++
				TB spécifique	Localisée	Lupus tbc	Modérée	++
			Hématogène	TB spécifique	Localisée	Gomme tbc	Modérée	++
				TB spécifique	Localisée	Ulcération tbc	Modérée	++
			TB spécifique	Progressive	TB serpigneuse fongueuse	Faible	+++	
			TB spécifique	Progressive	TB orificielle	Faible	+++	
	TB spécifique	Généralisée	TB miliaire	Faible	+++			
	Réactionnelles	Endogène	Hématogène	Variable	Localisée	EIB	Modérée/ Bonne	-/+
Variable					TPN	Modérée/ Bonne	-/+	
Variable				Généralisée	LS	Modérée/ Bonne	-/+	

Abréviations : Batério : bactériologie, PI :primo-infection, TB :tuberculose, tbc :tuberculeux/se, SFD : scrofuloderme, EIB : érythème induré de Bazin, TPN: tuberculides papulo-nécrotiques, LS :lichen scrofulosorum, +++ : multiple bacilles, ++ : quelques bacilles, +/- : bacilles rares, -/+ : bacilles inhabituellement retrouvés , + ? : variable dépend du moment de l'évolution. .

Tableau VIII. Classification distinguant les formes de tuberculose cutanée vraie des formes réactionnelles [27,97,98].

Tuberculose cutanée vraie	Chancre d'inoculation
	Scofuloderme
	Gomme
	Tuberculose ulcéreuse orificielle
	Miliaire tuberculeuse
	Tuberculose verruqueuse
	Lupus tuberculeux
Formes réactionnelles	Tuberculides papulo-nécrotiques
	Lichen scrofulosorum
	Erythème induré de Bazin
	Erythème noueux

I.4.2. Tuberculose cutanée vraie

I.4.2.1. Formes d'origine exogène

I.4.2.1.1. Chancre d'inoculation

Forme exceptionnelle. C'est une tuberculose cutanée primitive, due à une contamination directe par le BK d'un sujet non immunisé. Le chancre d'inoculation est surtout observé chez le jeune enfant et le nourrisson et prédomine aux membres inférieurs, à la face et aux muqueuses oro-génitales. Il résulte le plus souvent d'une blessure infectante (chirurgie traditionnelle, circoncision, percement d'oreille, tatouage...), plus rarement d'une contamination orale (lait contaminé, baiser) ou sexuelle (existence d'épididymite ou de salpingite tuberculeuse chez le partenaire sexuel)[7].

L'inoculation cutanée de *Mycobacterium bovis* peut également s'observer chez les sujets au contact avec le bétail (vétérinaires, éleveurs...) [8].

Après une incubation de 1 à 3 semaines, un nodule érythématoviolacé ferme, de petite taille apparaît. Il aboutit à une ulcération caractérisée par des bords décollés. Il se complique, en quelques semaines, d'une lymphangite avec adénopathies satellites d'évolution fistulisée et généralement torpide [7,8].

Le chancre guérit spontanément. La localisation cutanée laisse une cicatrice gaufrée mais la maladie peut progresser et atteindre d'autres organes [7,8].

L'intradermo-réaction à la tuberculine : est négative initialement (elle se positiviera ultérieurement) [7,8].

Le bacille de Koch : peut être mis en évidence à l'examen direct au frottis ou après culture [8].

L'histologie : révèle la présence, autour de la zone nécrotique, d'un infiltrat inflammatoire non spécifique comportant surtout des polynucléaires neutrophiles. Les bacilles acido-alcool-résistants peuvent être mis en évidence à ce stade initial dans la lésion. A un stade ultérieur, marqué par l'évolution granulomateuse, l'identification des B.A.A.R. devient plus difficile [7,8].

I.4.2.1.2. Tuberculose verruqueuse (*"Tuberculosis verrucosa cutis"*)-végétantes

Elle résulte de la ré-inoculation du bacille de Koch chez un sujet antérieurement sensibilisé. Elle peut être secondaire à un contact accidentel ou professionnel (médecin, boucher...) [7,8].

Elle réalise l'aspect d'un placard verruqueux de forme irrégulière, circulaire ou ovale, d'extension lente et progressive, parfois serpiginieuse avec évolution atrophique centrale. Au cours de l'évolution, il peut prendre un aspect annulaire [99,100]. Il est habituellement unique parfois multiple [99] et entouré d'une aréole inflammatoire rose ou violacée [8].

La pression du placard fait sourdre des gouttelettes de pus évoquant l'existence de petits abcès intradermiques [4,7,8].

Une lymphangite avec adénopathie peut s'observer [4,7,8].

La tuberculose verruqueuse siège habituellement aux extrémités en particulier au niveau du bord radial des mains et de la face dorsale des doigts. Cette 2^{ème} localisation est volontiers observée dans les professions de la santé appelée "la verrue du prosecteur de Laennec" [7,8] et chez les éleveurs de bétail. La tuberculose verruqueuse peut se localiser au niveau des poignets, ou à la région périnéale (en cas de tuberculose digestive) [7,8].

L'intradermoréaction à la tuberculine : est positive [7,8].

Histologiquement : est retrouvée une importante hyperplasie épidermique avec hyperkératose orthokératosique, une papillomatose et une acanthose. On peut observer des microabcès à polynucléaires neutrophiles. L'infiltrat inflammatoire

dermique est mixte et comporte des granulomes tuberculoïdes avec souvent de la nécrose caséeuse [7,8].

La bactériologie : le BK est rarement mis en évidence à l'examen direct [7,8]. Les cultures sont le plus souvent négatives. Elles peuvent être positives dans un tiers des cas [8].

I.4.2.2. Tuberculoses cutanées par contamination endogène

I.4.2.2.1. Par contiguïté : Scrofuloderme-Ecrouelles

Le scrofuloderme (ce terme provient de *scrofa*, c'est-à-dire truie par analogie aux tumeurs ganglionnaires du porc) résulte d'une extension par contiguïté à la peau d'une adénite ou d'une ostéoarthrite d'origine tuberculeuse ou autre, sur un terrain fragilisé.

L'aspect : il se traduit par un ou plusieurs nodules sous-cutanés froids et indolores se ramollissant et s'ulcérant en regard d'un foyer tuberculeux profond. Ce foyer peut être ganglionnaire avec une localisation fréquente au niveau du cou "*tuberculosis cutis colliquativa*" (les écrouelles du bas-latin *scrofellae*). Parfois retrouvés au niveau des creux supraclaviculaires et des plis axillaires ou inguinaux...). Le foyer contigu peut être ostéoarticulaire (de localisation rachidienne, sternale ou aux membres) [7,8], parfois épидидymaire [96,97] plus rarement mammaire [101].

Le scrofuloderme évolue lentement vers la cicatrisation et la fibrose au prix de brides rétractiles et de cicatrices chéloïdiennes.

L'histologie : les bacilles de Koch peuvent être mis en évidence au sein de granulomes tuberculoïdes comportant une importante nécrose caséeuse entourée d'un infiltrat riche en polynucléaires neutrophiles et en plasmocytes [8]. Un tissu inflammatoire non spécifique peut être retrouvé [7].

L'intradermoréaction à la tuberculine : est le plus souvent positive [7].

La bactériologie : l'examen direct et la culture à la recherche du BK sont parfois positifs [7].

I.4.2.2.2. Par auto-inoculation : Tuberculose ulcéreuse orificielle ("*tuberculosis cutis orificialis*")

Secondaire à l'extension (par une auto-inoculation) à la peau ou à la muqueuse d'un foyer tuberculeux pulmonaire, laryngé, intestinal ou urogénital [7,8]. Elle comporte des ulcérations périorificielles subaiguës (cavité buccale, narines, anus, urètre) [7,8].

La localisation préférentielle se fait à la langue et aux lèvres [7,8]. Elle réalise l'aspect d'un ulcère généralement unique superficiel et non induré, à bords irréguliers et décollés à fond fibrinopurulent, granuleux avec parfois semis de grains jaunâtres. Cet ulcère est particulièrement douloureux et persistant. Il s'associe à une polyadénopathie inflammatoire homolatérale [8].

Les localisations anales et génitales ont une tendance végétante et/ou verruqueuse (aspect fongueux) [8].

L'histologie : il existe un infiltrat inflammatoire massif et non spécifique où l'on peut individualiser le bacille. Lorsque la lésion est chronique, un granulome apparaît et le bacille est alors difficilement mis en évidence [7]. Se développe secondairement une hyperplasie épidermique pseudoépithéliomateuse pouvant faire évoquer un carcinome [8].

Les cultures : sont souvent positives [8].

I.4.2.3. Tuberculose cutanée par dissémination hémotogène

I.4.2.3.1. Miliaire cutanée aigue ("*Tuberculosis cutis miliaris acuta generalisata*")

Rare, survient après diffusion par voie hémotogène du BK à partir d'un foyer viscéral surtout pulmonaire ou lors d'une primo-infection sévère [7,8]. Elle touche le terrain immunodéprimé ou les sujets d'âge extrême (nourrisson, sujets âgés) [102].

L'aspect clinique : éruption diffuse faite de multiples petites papules, parfois de couleur érythématoviolette, pustuleuses ou purpuronécrotiques, parfois coalescentes ou pseudolupiques et d'évolution abcédée [7,8]. Des lésions muqueuses peuvent s'associer au tableau cutané [8].

Cette éruption s'accompagne d'une altération profonde de l'état général, de fièvre et de localisations multiviscérales : méningite, hépatomégalie, splénomégalie, atteinte médullaire, urinaire...[7,8].

L'examen du fond d'œil: permet parfois de visualiser un tubercule rétinien de Bouchut [7,8].

Le diagnostic bactériologique : les bacilles sont généralement objectivables à l'examen direct des prélèvements et surtout à la culture [7,8].

L'histologie : comporte initialement un infiltrat à polynucléaires neutrophiles, secondairement à lymphocytes.

L'intradermoréaction à la tuberculine: est négative, signant l'immunodépression [7,8].

L'évolution : est souvent fatale même chez l'adulte et malgré un traitement bien conduit, en raison d'une éventuelle immunodépression profonde sous-jacente (SIDA ...), et d'une fréquente chimiorésistance [7,8]

I.4.2.3.2. Gommes tuberculeuses

Classiquement surviennent sur un terrain débilisé, chez des enfants dénutris ou des patients immunodéprimés [7]. Ce sont des nodules dermo-hypodermiques circonscrits, évoluant vers le ramollissement, l'ulcération puis la cicatrisation. Ce sont des abcès tuberculeux métastatiques qui résultent d'une dissémination hématogène du BK à partir d'un foyer viscéral [8].

Clinique :

La gomme est une lésion unique ou multiple évoluant en 4 stades :
-stade de crudité : se présente sous forme d'un nodule sous cutané profond, dont la taille varie entre celle d'un pois et celle d'une noix, de consistance ferme, mobile, indolore. L'évolution est lente, froide en quelques semaines vers le ramollissement.

-stade de ramollissement : le nodule adhère à la peau qui prend une teinte violacée, il se ramollit et devient fluctuant [8].

-stade d'ulcération : la zone livide centrale finit par se perforer laissant s'écouler un mélange de sang et de pus. Elle aboutit à une ulcération fistuleuse de forme irrégulière, à bords violacés, déchiquetés, décollés, flottants et à fond granuleux, jaunâtre et purulent [8].

-stade de cicatrisation : après plusieurs mois ou années d'évolution, survient une cicatrice irrégulière, souvent adhérente ou chéloïdienne, gaufrée avec des brides, des languettes, des ponts fibreux.

Topographie : ubiquitaire, survient sur n'importe quelle partie du tégument (cutané ou muqueux), avec prédilection pour le tronc et les membres [7].

Formes cliniques [8] :

-gommes syphiloïdes : siègent sur les membres (jambes). Aboutit à une ulcération bien limitée, ronde ou polycyclique à bords adhérents. Au stade de cicatrisation, la cicatrice est régulière.

-gommes sporotrichoïdes : touchent le sujet adulte, siègent surtout au niveau des avant-bras et des bras. Elles réalisent un aspect similaire à celui des gommes sporotrichosiques (mycose profonde). Ces lésions se disposent le long d'un trajet lymphatique.

-gommes dermiques : prenant naissance dans le derme. Elles sont superficielles souvent multiples, parfois disséminées, siègent surtout sur le visage.

L'intradermoréaction à la tuberculine : est habituellement positive sauf en cas d'immunodépression [7].

L'analyse du liquide de ponction : retrouve des lymphocytes et des polynucléaires.

L'histologie : retrouve des granulomes tuberculoïdes ou des infiltrats non spécifiques [7].

L'examen direct du liquide de ponction (de l'abcès) : est le plus souvent négatif mais la culture permet habituellement d'isoler le bacille tuberculeux [7,8].

I.4.2.3.3. Lupus tuberculeux (Lupus vulgaire ou "*Lupus vulgaris*")

Le lupus tuberculeux est une réactivation d'une tuberculose quiescente, il peut être dû :

- à la résurgence d'un foyer latent qui peut être cutané (site de BCG), ganglionnaire ou ostéo-articulaire et se propage à la peau ou à la muqueuse,
- à un foyer pulmonaire diffusant par voie lymphatique vers les muqueuses nasales, buccales ou conjonctivales,
- à la dissémination par voie hématogène (rarement) qui peut engendrer des lésions cutanéomuqueuses multiples du lupus exanthématisques [21].

Le lupus tuberculeux est une forme fréquente. Il prédomine dans les pays industrialisés et concerne la femme deux fois sur trois [8].

Clinique [8] : Il débute par des micronodules dermiques rouges assez mous (lupomes) brun jaunâtres de couleur "gelée de pomme" ou "sucre d'orge" dits "grains lupoïdes" visibles à la vitro-pression. Ces micronodules sont coalescents et réalisent un placard.

Le lupus plan : c'est l'aspect le plus fréquent. Il se présente sous forme d'un placard saillant, légèrement infiltré mesurant quelques centimètres de diamètre. Ce placard est lisse ou squameux. Il est de couleur rouge violacée, ses bords sont le plus souvent déchiquetés, parfois bien limités. La vitro-pression laisse apparaître les lupomes. A sa proximité peuvent exister d'autres lupomes isolés.

Il siège au niveau de la face (nez, joues) plus rarement au niveau du tronc ou des extrémités.

Evolution [8,75] : se fait lentement vers un affaissement central du placard avec apparition de micro-ulcérations, de croûtelles et de repullulations de lupomes au niveau de la zone cicatricielle. La zone périphérique reste érythématoviolacée et évolutive.

Formes cliniques [8] : elles sont beaucoup plus rares et ne reproduisent pas la description du lupus plan habituel.

a-lupus ulcéro-végétant (lupus vorax) : touche préférentiellement la pointe du nez.

Il réalise un placard rouge d'emblée épais, infiltré, de consistance molle et saillant. Ce placard s'ulcère et aboutit à des cratères qui se recouvrent de croûtes et bourgeonnent en périphérie. En l'absence de traitement, l'évolution se fait vers des mutilations effroyables, transformant le centre du visage en un énorme cratère [103].

b- lupus serpiginieux : réalise l'aspect d'un placard étendu, occupant une grande partie du tronc ou d'un membre. Il est caractérisé par une extension irrégulière et lente sur plusieurs années.

c- lupus tumidus : il forme une masse rouge jaunâtre, infiltrée, sans tendance à l'ulcération.

d- lupus myxomateux : siège surtout au niveau du lobule de l'oreille. Il réalise l'aspect de masses molles, jaunâtres et mamelonnées (correspondant à la confluence de plusieurs volumineux nodules), sous un épiderme lisse et transparent. La vitro-pression met en évidence un infiltrat lupique diffus.

e- lupus scléreux ou verruqueux de Leloir et Vidal : produit un bourrelet papillomateux induré sur les membres. Il est difficilement distinguable de la forme verruqueuse de la tuberculose cutanée.

f- lupus psoriasiforme : il peut simuler la plupart des dermatoses érythémato-squameuses, avec des plaques squameuses étendues et infiltrées.

g- lupus papulo-nodulaire : c'est une forme où les tubercules lupiques restent isolés et forment des élevures recouvertes par des croûtes jaunâtres, de siège au niveau du visage simulant un gros bouton d'acné.

h- lupus annulaire : caractérisé par une forte extension centrifuge, à distinguer du lupus érythémateux subaigu et des dermatophyties.

l- lupus post-exanthématique (lupus miliaire) [104].

Lupus tuberculeux muqueux [21] :

L'atteinte des muqueuses existe dans les 3/4 des cas, elle est habituellement le point de départ de l'affection.

a- le lupus endonasal : débute sur la cloison cartilagineuse, aboutissant à la perforation antérieure de la cloison. En l'absence de traitement, il aboutit à des destructions ou des synéchies.

b- le lupus de la cavité buccale : peut survenir à partir d'une localisation endonasale ou labiale. Le pronostic est mauvais, car il retentit sur l'état général.

c - le lupus de la langue : prend l'aspect d'un petit nodule isolé ou de placards condylomateux d'aspect syphiloïde.

d - le lupus du larynx: par extension d'un lupus endonasal.

e - le lupus des conjonctives oculaires : souvent secondaire à l'envahissement du canal lacrymal par un lupus endonasal.

f- le lupus de l'oreille moyenne: par extension d'un lupus du pharynx ou du pavillon.

g- l'atteinte de la muqueuse génitale et anale : exceptionnelle.

Diagnostic paraclinique :

L'intradermo-réaction à la tuberculine : est toujours positive [8].

L'histologie [8] : met en évidence un épiderme d'aspect très variable parfois atrophique ou au contraire hyperplasique, parfois ulcéré. Le granulome tuberculoïde avec amas de cellules épithélioïdes, de cellules géantes de type Langhans et une couronne de lymphocytes est toujours présent. La nécrose caséuse centrale est peu fréquente.

La bactériologie : les bacilles tuberculeux ne sont pas mis en évidence par la coloration de Ziehl Neelsen et la culture est généralement négative (bien que certaines études ont obtenu 50% de positivité) [104,105].

Evolution :

1- évolution de la lésion : l'infiltrat lupique peut évoluer de 2 façons, soit il disparaît très lentement étouffé par un processus de sclérose fibreuse cicatricielle, soit plus rarement il se nécrose et s'ulcère. Le terme final de ces 2 processus est une cicatrice atrophique [21].

2- évolution de l'affection : est lente, marquée par des poussées extensives ou congestives pseudoérysipéloïdes, forme passagère régressive, ulcération, bourgeonnement, mutilation.

3- complications parfois graves à type de [104] :

*mutilations (en cas de formes ulcéreuses médio-faciales) [103].

*dégénérescence en épithélioma spinocellulaire.

*éléphantiasis secondaire aux poussées d'érysipèle ou à la chronicité du lupus.

I.4.3. Tuberculoses éruptives ou formes réactionnelles

Surviennent chez les sujets qui présentent des antécédents de tuberculose ou une tuberculose évolutive.

*Sujettes à des controverses, ces formes seraient dues à des réactions hyperimmunes liées au relargage d'antigènes par un foyer tuberculeux interne, souvent méconnu [75].

Concernant ces entités cliniques, ont été rapportées des observations associant chez un même malade 2 formes réactionnelles : des tuberculides papulonécrotiques et un érythème induré d'une part [106-109] ou un lichen scrofulosorum et un érythème induré d'autre part [110]. Des associations de formes réactionnelles avec des formes multibacillaires [111], ou avec des localisations tuberculeuses rares telles que la mastite tuberculeuse [112] ont été décrites.

Malgré les difficultés du diagnostic bactériologique dans ces formes réactionnelles, des études ayant utilisé les techniques de "polymerase chain reaction" (PCR) directement sur broyat de biopsie cutanée, ont pu détecter le *Mycobacterium tuberculosis* [110,113-119]. Par ailleurs, les résultats ont été très variables selon les études.

Plusieurs formes sont à distinguer :

Clicours.COM

I.4.3.1. Tuberculides papulonécrotiques [8]

C'est une éruption faite de papules pourpres, dures et infiltrées, de papulopustules recouvertes d'une croûte et de lésions nécrotiques qui disparaissent spontanément en laissant une cicatrice déprimée.

L'éruption évolue par poussées et prédomine de façon bilatérale et symétrique aux faces d'extension des membres, aux faces dorsales des doigts et des orteils, aux fesses et aux lombes.

L'intradermo-réaction à la tuberculine: est toujours positive, volontiers phlycténulaire.

L'histologie : retrouve la composante granulomateuse avec présence de cellules géantes, de lymphocytes et d'histiocytes et la composante nécrotique avec caséification centrale (correspondant à l'aspect spécifique du granulome tuberculoïde avec la nécrose caséuse).

La recherche du bacille de Koch : est toujours négative.

I.4.3.2. Lichen scrofulosorum [8]:

Décrit par Hebra en 1868. Il touche l'enfant et l'adulte jeune. Il est presque toujours associé à une tuberculose ancienne ou évolutive le plus souvent ganglionnaire ou osseuse.

L'éruption est faite de la coalescence en placards granités de micropapules folliculaires, rosées, parfois légèrement prurigineuses. Ces lésions peuvent se surmonter de micropustules, de squames filiformes ou d'épines kératosiques (aspect spinulosique). Des papules non folliculaires, jaunâtres, d'aspect lichénoïde peuvent s'y associer. Les lésions prédominent au tronc et aux membres, la face est rarement touchée.

L'intradermoréaction à la tuberculine : est généralement fortement positive.

L'histologie : retrouve un granulome tuberculoïde parfois seulement ébauché avec un infiltrat longeant le follicule pileux dont l'orifice est rempli de lamelles cornées parakératosiques.

I.4.3.3. Les tuberculides papulo-nodulaires de la face

Plusieurs appellations leur ont été données : lupus miliaire disséminé de la face "*lupus miliaris follicularis faciei disseminata*"(Fox) ou "*acnitis*" (Barthélémy) ou "*acné agminata*"(Crocker) [120].

Rattachée initialement à une origine tuberculeuse, l'étiologie de ces lésions est devenue très controversée. Leur rapport avec la tuberculose n'est plus admis actuellement [104].

Certains auteurs pensent que ces tuberculides peuvent être considérées comme une entité à part entière et résultent d'une réaction granulomateuse à des agents non encore définis (le demodex ou le sébum ayant été incriminés) [120]. Atteint l'adulte jeune et l'adolescent. L'éruption est faite de micropapules parfois associées à des pustules survenant en plusieurs poussées, d'évolution nécrotique et pouvant disparaître spontanément en laissant des cicatrices atrophiques. La localisation est surtout médiofaciale (menton, lèvre supérieure, racine du nez, pommettes et paupières [120].

L'histologie: comporte un granulome tuberculoïde avec nécrose centrale anhiste.

La fréquente négativité de l'IDR à la tuberculine, l'absence de bacille de Koch à l'examen direct et à la culture, la normalité de la radiographie pulmonaire et l'absence de contagion à l'anamnèse, enfin plus récemment la négativité de la PCR, peuvent faire envisager d'autres hypothèses [120].

I.4.3.4. Erythème induré de Bazin

Ce syndrome anatomo-clinique décrit sous le nom d'érythème induré de Bazin en 1855. C'est une vascularite nodulaire survenant préférentiellement chez la femme (90 %), à tout âge après la puberté (âge moyen 40 ans). Il atteint surtout les femmes présentant une surcharge pondérale et une insuffisance veineuse [75]. Il réalise des poussées d'hypodermite de rythme variable (aggravées lors de la fatigue ou en hiver), évoluant durant plusieurs années, précédées de signes généraux (fièvre, asthénie), d'une sensation de "jambes lourdes". Leur localisation est bilatérale et asymétrique, les lésions prédominent aux membres inférieurs, particulièrement sur la face postérieure du tiers inférieur des jambes. Ils prennent l'aspect de nodules inflammatoires de 1 à 2 cm de diamètre, fermes, mal circonscrits, mobiles par rapport au plan profond avec un épiderme normal ou érythématoviolacé (avec parfois une collerette de desquamation) en regard. Ils sont peu nombreux (un à dix) et parfois confluents en placards infiltrés, sensibles ou douloureux surtout à la palpation. Parfois, l'évolution se fait vers l'ulcération, avant la guérison spontanée en quelques semaines à quelques mois, laissant une cicatrice hyperpigmentée [7].

L'intradermoréaction à la tuberculine : est habituellement fortement positive. Ce signe est le meilleur argument du diagnostic car l'étiologie tuberculeuse est difficile à mettre en évidence [7,8,118,121].

La bactériologie : d'une part, le bacille de Koch n'est pas mis en évidence à l'examen direct ou à la culture. D'autres parts, il faudrait souligner que la technique de PCR a amené des arguments en faveur de l'origine tuberculeuse (par la détection de l'ADN du *Mycobacterium tuberculosis*) dans quelques observations [113,114]. Toutefois la spécificité et la sensibilité n'ont pas été parfaites [118].

L'histologie : est observé un infiltrat lymphohistiocytaire initialement hypodermique lobulaire et parfois septal, puis dermohypodermique avec une atteinte vasculaire multifocale, touchant les vaisseaux artériels et, typiquement thrombosant les veines de moyen et de petit calibre avec nécrose fibrinoïde et leucocytoclasie. Les granulomes tuberculoïdes périvasculaires apparaissent plus tardivement comportent parfois une nécrose caséuse [8].

I.4.3.5. Erythème noueux [7]

L'étiologie tuberculeuse est devenue rare, mais reste présente chez les enfants dans les pays tropicaux les moins favorisés.

L'éruption est précédée par une phase prodromique, marquée par de la fièvre, des arthralgies et une altération de l'état général. Il s'agit d'une hypodermite nodulaire aiguë, réalisant des nodosités inflammatoires de 10 à 40 mm, rouges, chaudes, douloureuses à la palpation, mal limitées. Ce sont des lésions profondément enchâssées dans le derme et l'hypoderme. Elles siègent essentiellement au niveau des faces d'extension des jambes, plus rarement aux avant-bras. Leur nombre est variable de 2 à 3 à plusieurs dizaines. Chaque élément persiste 2 à 3 semaines, passant par des teintes de la biligénèse avant de disparaître sans laisser de cicatrice. Les poussées se succèdent en 3 à 6 semaines environ. L'histologie: confirme le diagnostic de l'érythème noueux sans pouvoir mettre en évidence le BK.

Une intradermoréaction à la tuberculine phlycténulaire ou le virage des réactions tuberculiniques représentent des éléments importants pour faire le diagnostic étiologique.

I.4.4. Effets secondaires du BCG [75,122]

Les complications cutanées du BCG sont exceptionnelles et se divisent en complications spécifiques et non spécifiques.

Complications non spécifiques : souvent liées à des erreurs techniques, ou à une immunodépression du patient : infections secondaires, abcès sous-cutané dû à une injection trop profonde, granulomes annulaires localisés ou diffus, chéloïdes, éruptions 4 à 8 semaines après le vaccin, eczéma...etc.

Complications spécifiques à type de :

- **Bécégite** : rencontrée après vaccination initiale ou revaccination, ou après mésothérapie avec des aiguilles souillées par le BCG. Se manifeste par l'apparition au point d'injection d'une papule inflammatoire, indolore, qui se fistulise puis s'ulcère, sans aucune tendance à la guérison spontanée. 3 à 6 semaines plus tard, une adénopathie satellite apparaît et peut éventuellement se fistuliser. L'histologie montre les granulomes tuberculoïdes. La bactériologie peut mettre en évidence du BK à l'examen direct ou à partir de la culture.
- **Lupus vulgaire** : il est rare. Cette complication s'observe le plus souvent après une revaccination. Il correspondrait à une réaction "d'hyperimmunisation" chez un sujet déjà immunisé. Le lupus tuberculeux se développe sur le site de vaccination ou à son voisinage après un délai variant de quelques mois à 3 ans [123].
- **Granulomatose généralisée** : il s'agit d'une éruption généralisée à type de dissémination miliaire, avec ou sans localisations viscérales. Elle est en rapport avec une immunodépression, et est souvent de pronostic défavorable.

I.5. TRAITEMENT

Il comporte un double volet : préventif et thérapeutique.

I.5.1. Prévention

Elle se fait par une vaccination par le vaccin BCG (bacille Calmette et Guérin) qui semble permettre une réduction du risque de tuberculose aussi bien pulmonaire qu'extrathoracique avec, surtout, un taux de protection plus important pour les formes graves, notamment les méningites.

I.5.2. Traitement de la tuberculose cutanée [124]

Le but du traitement est de détruire le BK dans les foyers tuberculeux cutanés (et viscéraux en cas d'association).

Il fait appel à l'association de plusieurs antibiotiques antituberculeux afin d'éviter la sélection de mutants résistants et pour rendre le patient rapidement non contagieux.

I.5.2.1. Médicaments essentiels utilisés en Algérie

Ils sont au nombre de cinq :

- L'isoniazide (H)
- La rifampicine (R)
- La streptomycine (S)
- Le pyrazinamide (Z)
- L'éthambutol (E)

Les quatre premiers possèdent, à des degrés divers, trois propriétés principales : ils sont bactéricides, stérilisants et capables de prévenir l'émergence de bacilles résistants lorsqu'ils sont associés.

- L'isoniazide et la rifampicine sont les plus puissants et représentent des médicaments majeurs, hautement bactéricides. Ils agissent sur les bacilles en multiplication rapide et continue, mais aussi sur ceux qui sont en multiplication ralentie à l'intérieur des macrophages.

- La streptomycine est incapable de traverser la membrane cellulaire et n'est active que sur les bacilles extracellulaires qui se multiplient très rapidement.

- Le pyrazinamide est actif en milieu acide et détruit ainsi les bacilles intracellulaires.

- L'éthambutol est un bactériostatique. Il est utilisé en association avec des bactéricides puissants pour éviter l'apparition de bacilles résistants [124,125].

Forme et dosage [124,126]

Isoniazide (H) : Rimifon ®

Dose :

- Adulte : 4-6 mg/kg de poids/ jour en moyenne 5 mg/kg /jour.
- Enfant : 10 mg/kg/jour.

Présentation: comprimés dosés à 100 mg et à 300 mg.

Rifampicine (R) : Rifadine®, Rimactan®

Dose :

- Adulte : 8-12 mg/kg/jour en moyenne 10 mg/kg/jour.
- Enfant > 7 ans : 8-12 mg/kg/jour.
- Enfant de 1 mois à 7ans : 10 mg/kg/jour.

Présentation : comprimés, gélules dosées à 150 mg et à 300 mg.

Pyrazinamide (Z) : Pirilène®

Dose:

- Adulte : 20-30mg/kg/J en moyenne 25mg/kg/jour.
- Enfant : 20mg/kg/jour.

Présentation : comprimés dosés à 400 mg.

Ethambutol (E): Dexambutol®, Myambutol®

Dose :

- Adulte : 15-20 mg en moyenne 15 mg/kg/jour.
- Enfant : 25-30 mg/kg/jour.

Présentation :

- Le myambutol® comprimés dosés à 100 mg et à 400mg.
- Le dexambutol® comprimés dosés à 250 mg et à 500 mg.

Streptomycine(S)

Dose : 12-18 mg/kg/jour en moyenne 15mg/kg/jour.

Présentation : ampoule injectable dosée à 1g.

Associations [124,125]

Association quadruple : R.H.Z.E.

Rifampicine 150 mg + isoniazide 75 mg + pyrazinamide 400 mg + éthambutol 275 mg par comprimé.

Association triple : R.H.Z. ou Rifater®

Rifampicine 150 mg+ isoniazide 75 mg + pyrazinamide 400 mg par comprimé.

Dosage pédiatrique : Rifampicine 60 mg + isoniazide 30 mg + éthambutol 150 mg par comprimé.

Association double : RH ou Rifinah®

Rifampicine 150 mg + isoniazide 75 mg par comprimé.

Dosage pédiatrique : Rifampicine 60 mg + isoniazide 30 mg par comprimé.

Posologie [124] (Tableau IX)

Tableau IX. Traitement des nouveaux cas de tuberculose (nombre de comprimés à prescrire pour prise orale quotidienne).

Poids des malades (kg)	Phase initiale (2 mois)		Phase d'entretien (4 mois)
	TP et TEP sévères (catégorie I)	TEP (catégorie III)	TP et TEP
	RHZE 150/75/400/275 mg	RHZ 150/75/400	RH 150/75
30 – 39	2	2	2
40 – 54	3	3	3
55 – 70	4	4	4
71 et plus	5	5	5

I.5.2.2. Médicaments de réserve

Ce sont des médicaments moins actifs et plus toxiques réservés au traitement des cas chroniques (échecs ou rechutes après un traitement de 2^{ème} ligne) considérés comme des cas de tuberculose à bacilles multirésistants. Parmi ces médicaments nous citons : l'éthionamide, l'ofloxacine, la kanamycine et la cyclosérine [123].

I.5.2.3. Nouveaux antituberculeux [49,126]

- TMC 207, antibiotique prometteur pour les formes multi-résistantes (MDR). C'est une diarylquinoline qui inhibe l'ATP synthase mycobactérienne.

Les nitroimidazoles : des antituberculeux conçus contre la persistance du bacille. Le PA-824 (dont l'efficacité est comparable à l'INH) et l'OPC-67683.

- Les benzothiazinones : Les 1,3-benzothiazin-4-ones (BTZs) prometteurs pour les cas de tuberculoses ultra-résistantes (XDR) et multi-résistantes (MDR). Ils inhibent un précurseur requis pour la synthèse de l'enveloppe bactérienne, induisant ainsi la lyse cellulaire et la mort de la bactérie.

- De nouveaux analogues : La moxifloxacine et la gatifloxacine sont des fluoroquinolones qui pourraient remplacer l'éthambutol dans le traitement de 1ère ligne et diminueraient la durée du traitement de la tuberculose active de 6 mois à 4 mois.

- La rifapentine, un analogue de la rifampicine : possède une demi-vie plus longue donc pourrait diminuer la fréquence des prises de médicaments.

I.5.2.4. Régimes thérapeutiques

Ils ont été mis au point au décours du programme national de la lutte contre la tuberculose [124].

Il s'agit d'un traitement quotidien administré en une seule prise matinale à jeun ½ heure avant le petit déjeuner.

Dans la tuberculose cutanée, est préconisé habituellement le régime de 1^{ère} ligne.

I.5.2.4.1. Régime de 1^{ère} ligne (2RHZE ou 2RHZ/4RH)

Il comporte deux phases [126] :

- durant la première phase de 2 mois (traitement d'attaque), l'association de 3 (RHZ) ou 4 antibiotiques (RHZE) selon la coexistence ou non d'un autre foyer tuberculeux extra-cutané et selon la nature et la sévérité de cette localisation.
- durant la seconde phase de 4 mois (traitement d'entretien), l'association isoniazide et rifampicine. Cette phase peut être prolongée jusqu'à 7 ou 10 mois en cas d'association avec une autre localisation tuberculose plus grave (neuroméningée, osseuse...) [125].

I.5.2.4.2. Régime standardisé de 2^{ème} ligne (2SHRZE/1HRZE/5HRE)

C'est un régime de 8 mois qui associe : la streptomycine, l'isoniazide, la rifampicine, le pyrazinamide et l'éthambutol , administrés quotidiennement pendant les deux premiers mois, suivis de la prise quotidienne de H, R, Z et E, durant le troisième mois, et de l'instauration quotidienne de H, R et E pendant les cinq derniers mois. Ce régime est recommandé (après preuve bactériologique et même radiologique dans les cas tuberculose pulmonaire) en cas de :

- de rechutes de tuberculose pulmonaire déjà traitée par le régime de première ligne.
- de reprises évolutives,
- d'échecs du traitement de première ligne [124].

Ce régime n'est pas indiqué dans la tuberculose cutanée qui ne représente pas une forme sévère de tuberculose.

I.5.2.5. Surveillance du traitement [124,126]

- La fonction rénale (créatininémie) doit être contrôlée avant le début du traitement. Si elle est normale, elle n'a pas lieu d'être contrôlée à nouveau. En cas d'insuffisance rénale la posologie des médicaments peut être adaptée en fonction de la clairance de la créatinine.
- La fonction hépatique (transaminases) doit être contrôlée avant le traitement et après 2, 4, 6 et 8 semaines de traitement.
- Le pyrazinamide et ses métabolites étant excrétés en compétition avec l'acide urique, l'uricémie doit être dosée avant traitement. La surveillance systématique de l'uricémie sous traitement est utile, l'hyperuricémie étant un des indicateurs de l'observance du traitement.
- L'éthambutol pouvant être toxique pour le nerf optique, la fonction visuelle (champ visuel et vision des couleurs) doit être contrôlée au cours du premier mois de traitement.
- Compte tenu de la perte de poids fréquente au moment du diagnostic d'une tuberculose, il est nécessaire d'adapter les posologies à la progression du poids sous traitement.
- La vitamine B6 (50 mg/j) doit être administrée pour prévenir la survenue de la neuropathie périphérique (signalée généralement par des paresthésies distales des membres inférieurs), causée habituellement par l'isoniazide. L'adjonction de ce produit est souhaitable chez les malades à risque, c'est-à-dire en cas de grossesse, d'exogénose, de dénutrition, de diabète, d'éthylisme, d'insuffisance rénale et d'infection par le VIH.
- Les patients ayant présenté un effet secondaire majeur à l'un des produits peuvent utiliser les molécules séparées.
- Au cours de la grossesse, la chimiothérapie antituberculeuse ne fait courir aucun risque à la femme enceinte ni à l'enfant.
- La streptomycine et la kanamycine sont à éviter chez la femme enceinte à cause de leurs effets tératogènes potentiels.
- La rifampicine doit a priori être évitée au cours des dernières semaines de la grossesse à cause du risque d'hémorragies maternelles et néonatales. Cependant cet effet secondaire peut être prévenu par l'administration de vitamine K1 à la mère et à l'enfant.
- Après l'accouchement, il faut adapter la posologie au nouveau poids de la malade.

CHAPITRE II

Clicours.COM

MOYENS DE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE CUTANEE

II. MOYENS DE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE CUTANEE

II.1. TESTS IMMUNOLOGIQUES

II.1.1. Intradermoréaction à la tuberculine (IDRT)

L'IDRT ou test de Mantoux ou PPD test est un test cutané explorant l'hypersensibilité de type retardée induite par l'injection de composants antigéniques de *M. tuberculosis*.

Ce test provoque chez le sujet infecté, la libération de lymphokines, à l'origine d'une réaction qui se traduit par l'apparition 24 à 72 heures plus tard d'une infiltration localisée de la peau, due à l'œdème et à l'accumulation des lymphocytes sensibilisés au niveau du point d'injection [58,127] (Figure 12).

Suite à une infection récente par *M. tuberculosis*, il existe une période de 6 à 8 semaines durant laquelle le test cutané donne un résultat négatif (période appelée phase préallergique). Après cette période, le test est généralement positif. L'IDRT est le seul test validé jusqu'à présent mettant en évidence l'existence d'une immunité à médiation cellulaire à l'égard de *M. tuberculosis* [58].

La tuberculine se présente sous forme de solution prête à l'emploi dans un flacon de 2ml contenant 5 unités de tuberculine PPD (purified protein derivative) par 0,1ml.

Chaque flacon correspond à 20 doses et peut être conservé à long terme au réfrigérateur, à l'abri de la lumière [124].

II.1.1.1. Technique

L'IDRT nécessite une technique parfaite pour être validée : injection strictement intradermique et exsangue à la face antérieure de l'avant-bras de 0,1 ml de la solution tuberculinique (soit une dose de 5 UI) [58,124].

II.1.1.2. Lecture

La lecture du résultat à la 72^{ème} heure par la mesure du diamètre de l'induration mais parfois jusqu'au 6^{ème} jour en raison du délai variable de positivité (fonction de l'état nutritionnel de l'enfant) [124].

II.1.1.3. Interprétation

L'IDR T est positive quand la papule d'induration est égale ou supérieure à 10 mm chez le sujet adulte ou l'enfant non vacciné par le BCG et à 15 mm chez l'enfant

vacciné [124]. Une IDRT phlycténulaire est considérée comme fortement positive (Figures 12a, 12b et 12c).



Figure 12a



Figure 12b



Figure 12c

Figures 12: Réaction positive à l'intradermoréaction à la tuberculine.

Figures 12a, 12b et 12c: IDRT fortement positive, figures 12a et 12b IDRT phlycténulaire.

Les anomalies de l'interprétation [58] :

a- Les situations où **l'IDRT peut être faussement négative** au cours d'authentiques tuberculoses sont les suivantes :

- erreur technique : injection trop profonde, injection d'une quantité trop faible de tuberculine, tuberculine ayant perdu son activité antigénique... ;
- erreur de lecture : mauvaise lecture ou lecture trop retardée ;
- tuberculose en phase d'incubation (phase préallergique durant 6 à 8 semaines après un contact infectant) ;
- tuberculose miliaire : l'IDRT est souvent négative, car l'hypersensibilité est non acquise ;
- dépression de l'immunité cellulaire :

°le cadre du VIH est particulier : au stade précoce de l'infection par le VIH, l'IDRT est généralement positive en cas de tuberculose-maladie. A un stade plus avancé de la maladie, l'altération de l'immunité cellulaire se traduit notamment par une diminution des réactions d'hypersensibilité retardée lorsque le taux des lymphocytes T CD4+ est < à 200/mm³, une anergie à la tuberculine entrant dans le cadre du déficit immunitaire est souvent rapportée et l'IDRT n'a alors plus de valeur discriminante.

°en ce qui concerne les autres causes de dépression de l'immunité cellulaire, il faudrait noter les traitements immunosuppresseurs, les infections bactériennes sévères, les néoplasies, la vieillesse, la dénutrition, l'insuffisance rénale chronique...

- certaines infections virales (rougeole) et les vaccins viraux chez les enfants.

b-Des faux positifs peuvent être rencontrés chez certains patients non infectés par *M. tuberculosis* présentant une réactivité cutanée positive à la tuberculine. Ces

réactions croisées sont généralement liées soit à des infections par des mycobactéries non tuberculeuses (complexe de *M. avium* par exemple), soit à une réaction à l'égard du bacille bilié de Calmette et Guérin d'origine bovine (BCG). L'interprétation de l'IDRT doit tenir compte des antécédents de vaccination par le BCG, de l'état immunitaire du patient, de l'âge, et de l'effet amplificateur.

II.1.1.4. Indications de l'IDRT [58,124]

- dépistage d'une primo infection chez des sujets en contact avec des tuberculeux (enquête autour d'un cas de tuberculose) ;
- vérification de l'efficacité du BCG, dans ce cas l'IDRT doit être pratiquée au-delà des 6 mois suivant la date du BCG ;
- surveillance de sujets exposés [professionnels de santé, sujets vivant dans des collectivités à haut risque (milieu carcéral, toxicomanes.....)] ;
- vérification de l'absence de tuberculose avant une primo-vaccination, sauf chez les nourrissons de moins de trois mois ;
- aide ponctuelle au diagnostic de tuberculose.

II.1.2. Tests de détection de l'IFN γ

Deux tests dont le but est de pallier les limites de l'IDRT ont récemment été commercialisés : QuantiFERON® –TB et le T-SPOT®.TB [58,128]. Ils peuvent contribuer au diagnostic des tuberculides et des tuberculoses cutanées à culture négative, notamment celui de l'érythème induré de Bazin [129]. Des dermatologues de Singapour pensent que ces nouveaux tests en augmenteront la précision [130].

II.1.2.1. Principe [58]

Ces tests permettent de mettre en évidence *in vitro* une réponse immunitaire à l'égard de *M. tuberculosis* (Figure 13). Après stimulation par des protéines mycobactériennes, les lymphocytes T spécifiques de *M. tuberculosis* synthétisent des cytokines de type Th1, notamment de l'IFN γ . La détection de l'IFN γ est la base de ces nouveaux tests. Le substrat antigénique utilisé pour stimuler les lymphocytes T a changé au cours du temps. Initialement, la tuberculine PPD a servi de support antigénique. Par la suite, le choix des antigènes à utiliser, a découlé de l'avancée des connaissances issues du séquençage complet *M tuberculosis* grâce à la biologie

moléculaire.

Deux protéines d'intérêt ont ainsi été identifiées : *Early Secreted Antigenic Target 6 kDa protein (ESAT-6)* et *Culture Filtrate Protein 10 (CFP-10)*. ESAT-6 et CFP-10 sont des protéines de petite taille (< 10 kDa), codées par la région RD1 (*region of difference 1*) du génome de *M. tuberculosis*. Les gènes codant pour ESAT-6 et CFP-10 ne sont pas présents dans le génome du BCG, ni dans la plupart des mycobactéries non tuberculeuses, mais existent dans le génome de *M. kansasii*, *M. szulgai* et *M. marinum*. Par ailleurs, il existe une homologie d'identité d'ESAT-6 de 36 % au niveau protéique par rapport à *M. leprae*. D'autres gènes d'intérêt de *M. tuberculosis* ont été décrits. Un gène localisé dans la région RD11 du génome de *M. tuberculosis* code pour une protéine appelée **TB7.7**. Ce gène serait spécifique du génome de *M. tuberculosis*.

II.1.1.2. Tests ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) [58,128]

Le test QuantiFERON® -TB (*Celtestis Limited, Australie*) est un système de dosage sur sang total. Le sang est prélevé sur tubes héparinés.

Trois versions successives ont été commercialisées (Figure 12):

- 1- dans le premier test QuantiFERON® -TB Tuberculine PPD ;
- 2- dans le deuxième test QuantiFERON® -TB Gold, la tuberculine PPD a été remplacée par les peptides ESAT-6 et CFP-10 ;
- 3- la version actuelle du test QuantiFERON® -TB Gold In Tube est une version où la stimulation antigénique des cellules se fait directement dans le tube de prélèvement de sang (prélèvement sur trois tubes différents) :
 - dans le premier tube, le support antigénique est un mélange de peptides ESAT-6, CFP-10 auquel le peptide TB7.7 a été ajouté ;
 - les deuxième et troisième tubes contiennent respectivement le contrôle négatif et le contrôle positif (mitogène).

II.1.2.3. Test ELISPOT (*enzyme-linked immunospot*) [58]

Le test T-SPOT®.TB qui s'appelait précédemment CLINISPOT® -TB (*Oxford immunotec, Royaume-Uni*) est une technique ELISPOT dont le principe est de mesurer les réponses cellulaires dirigées contre un antigène donné, en quantifiant le nombre de lymphocytes T produisant une cytokine d'intérêt. Le test T-SPOT® -TB détecte l'INFY sécrété par les lymphocytes T spécifiques d'ESAT-6 et CFP-10 à partir de sang total prélevé dans un tube hépariné. Le résultat est rendu en nombre de lymphocytes T sécrétant de l'INFY (cellules formant un spot).

II.1.2.4. Avantages et inconvénients des tests de détection de l'IFN γ par rapport à l'IDRT [58]

Ces nouveaux tests présentent les avantages suivants :

- pas de deuxième consultation pour interpréter le résultat du test [131] ;
- tests permettant de faire la différence entre l'infection par *M. tuberculosis* et la vaccination par le BCG ;
- possibilité de discriminer une infection par *M. tuberculosis* d'une infection par *M. avium* [128];
- pour le test T-SPOT®. TB, chez les patients infectés par le VIH, le test serait valide même en cas d'immunodépression avec CD4+ < 200 cellules/ μ l, vu l'ajustement de la concentration cellulaire effectué au début de l'analyse.

Par contre, ils présentent les inconvénients suivants [58,128] :

- tests techniquement plus difficiles à réaliser que l'IDRT ; les deux tests nécessitent un laboratoire équipé avec un matériel défini, avec du personnel formé ;
- risque théorique de résultat faussement positif, les gènes codant pour ESAT-6 et CFP-10 existant dans le génome de *M. kansasii*, *M. szulgai* et *M. marinum* ;
- risque possible de réaction croisée avec *M. leprae* ;
- pour le test QuantiFERON® -TB, le résultat est indéterminé lorsque le témoin positif contrôle (mitogène) n'est pas validé ; chez les patients sous immunosuppresseurs, ce type de résultat serait obtenu dans 20 % des cas.
- ils ne permettent pas de distinguer une tuberculose active d'une tuberculose latente et ils peuvent être négatifs au cours d'une tuberculose avérée [132].

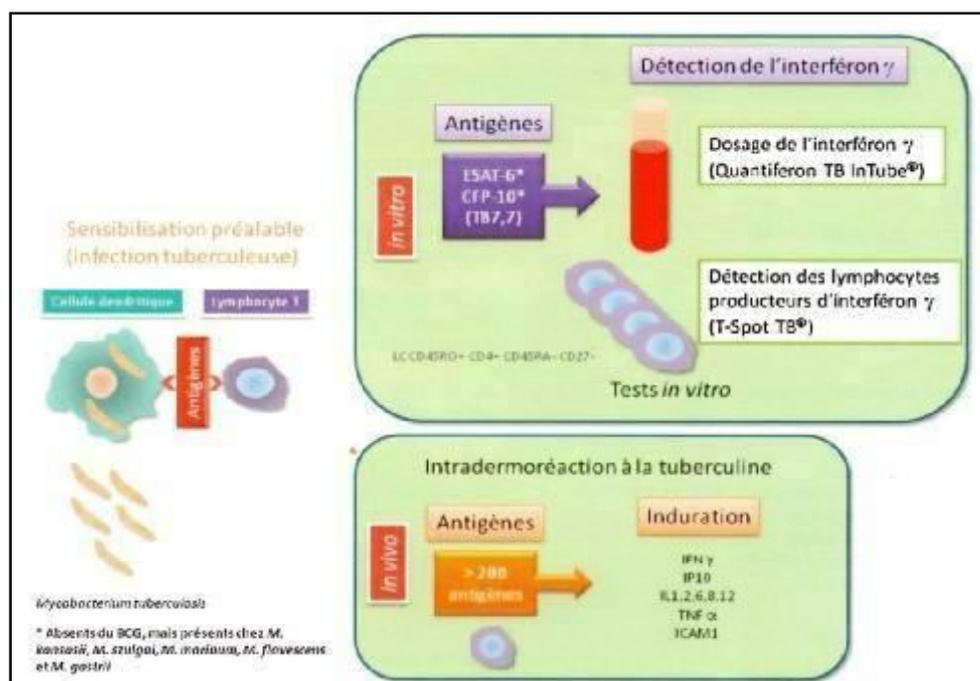


Figure 13 : Tests immunologiques de la tuberculose [133].

II.1.3. Tests immunologiques de détection d'antigènes [134]

II.1.3.1. LAM urine Test® (Chemogen, USA):

Il permet de rechercher le lipoarabinomannane (LAM), constituant glycolipidique de la paroi bactérienne, dans les urines des sujets tuberculeux. Ce test revêt un intérêt chez les sujets VIH positifs présentant des formes pulmonaires pauci-bacillaires ou des formes extra-pulmonaires. Certaines études lui ont estimé une sensibilité par rapport à la culture à 76-80 % et une spécificité à 99 %.

Un test immuno-enzymatique sur membrane (le Capilia TB Test® de Tauns Co Ltd, Japon et le test SD TB Ag MPT64 Rapid® de la société Eurobio, France) permet d'identifier en 15 minutes le *M. tuberculosis* uniquement à partir de colonies obtenues sur milieu solide ou en milieu liquide. La cible antigénique est la protéine MPB-64 et la sensibilité ainsi que la spécificité de ce test sont évaluées respectivement à 92,4 et à 100%.

II.1.3.2. Test Patho-TB® (Anda Biologicals, France)

Il s'agit d'un test utilisant des anticorps polyclonaux permettant le diagnostic antigénique rapide de la tuberculose par une technique de filtration.

II.1.3.3. Test de détection d'antigènes (Proteome Systems, Australie)

C'est un test de diagnostic rapide fondé sur la recherche de protéines spécifiques de la tuberculose évolutive.

II.1.4. Tests immunologiques de détection d'anticorps [135,136]

L'infection par *M. tuberculosis* induit une réponse immunitaire à médiation cellulaire et humorale. Aucun test sérologique n'a vraiment fait preuve de son efficacité avec un défaut de spécificité et de sensibilité. Les raisons qui peuvent expliquer ce manque de performances sont les suivantes :

- sujets vaccinés par le BCG,
- malades exposés aux mycobactéries non tuberculeuses en particulier les co-infectés par le VIH,
- existence de multiples avatars antigéniques que peut revêtir le *M. tuberculosis* au cours d'une infection. Le *M. tuberculosis* est en effet capable d'exprimer différents

gènes, variables selon le stade de la maladie : primo-infection, latence, tuberculose maladie, cavitaire ou non.

- de nombreux antigènes utilisés contiennent des déterminants antigéniques entraînant des réactions croisées entre *M. tuberculosis* et les autres mycobactéries.

II.2. EXAMENS BACTERIOLOGIQUES (Figure 31)

Le diagnostic microbiologique de la tuberculose cutanée est facile dans les formes multibacillaires. Il est beaucoup plus difficile dans les formes paucibacillaires.

II.2.1. Nature des prélèvements

Les prélèvements représentés par deux types :

- les pus d'abcès : prélevés de préférence à partir d'une ponction à l'aide d'une seringue stérile sinon si l'abcès est fistulisé par un écouvillonnage.
- le fragment cutané prélevé chirurgicalement au niveau de la périphérie de la lésion.

II.2.2. Préparation de l'échantillon [55]

- Les mèches, écouvillons, compresses :

Ces prélèvements doivent être humidifiés avec quelques gouttes d'eau distillée ou de sérum physiologique stérile avant de boucher hermétiquement le flacon stérile dans lequel ils auront été recueillis (afin qu'ils ne dessèchent pas).

Par la suite, ils doivent être triturés dans quelques millilitres d'eau distillée stérile. La décontamination portera sur ce liquide de dilution ou sur son culot de centrifugation avant son ensemencement. Néanmoins, ce type de prélèvement est à déconseiller pour la recherche des mycobactéries.

- Le prélèvement cutané : sera immergé dans quelques millilitres de sérum physiologique stérile au cours de l'acheminement. Puis au niveau du laboratoire sera écrasé et broyé à l'aide d'un broyeur de Potter ou dans un mortier stérile en présence ou non de sable stérile.

II.2.2.1. Prélèvements contaminés [6]

De nombreux prélèvements qui parviennent aux laboratoires proviennent de sites où la flore commensale est abondante.

Les mycobactéries pour la plupart d'entre elles sont des bactéries exigeantes dont la culture nécessite des délais souvent longs (plusieurs semaines).

Par ailleurs ces bactéries intracellulaires sont dans ces prélèvements, accompagnées de germes commensaux dont la croissance est plus rapide sur des milieux riches nécessaires à la culture des mycobactéries.

Il est nécessaire dans un premier temps de fluidifier (homogénéiser) et de décontaminer les prélèvements. Pour cela on met à profit la résistance des mycobactéries aux agents physico-chimiques, résistance conférée par leur paroi particulière. Le contact des prélèvements avec la soude, les acides, les détergents, permet d'éliminer la flore d'accompagnement indésirable et de conserver un maximum de mycobactéries. La fluidification concomitante en liquéfiant le produit libère les mycobactéries.

II.2.2.2. Méthodes de fluidification-décontamination [6,55]

Les produits décontaminants utilisés sont les acides (sulfurique, oxalique, chlorhydrique), les bases (soude, phosphate trisodique). Ces derniers peuvent être associés à des mucolytiques (N-acétylcystéine) ou à des détergents (lauryl-sulfate de sodium, chlorure de benzalkonium) qui favorisent la liquéfaction des produits visqueux [135].

La méthode qui associe la N-acétylcystéine et la soude (méthode de Kubica) est utilisable avec tous les milieux de culture et aussi en vue de PCR, alors que celle qui associe le lauryl-sulfate de sodium et la soude ne peut être employée qu'avec les milieux à l'œuf. Ces méthodes donnent des résultats satisfaisants et le taux des contaminations ne dépasse pas 3 %.

Quand les prélèvements sont très contaminés, des méthodes plus agressives peuvent être utilisées [soude à 4 % (méthode de Petroff), acide sulfurique, acide oxalique].

Dans un premier temps, le produit à analyser est mis en contact avec l'agent fluidifiant et décontaminant, le contact est maintenu pendant 20 à 30 minutes. Il est ensuite neutralisé en présence d'un indicateur coloré, centrifugé. Le culot est ensuite utilisé pour faire des frottis, ensemercer les milieux de culture et réaliser une PCR en cas de besoin (Figure 14).

Conditions à respecter pour le bon déroulement des examens bactériologiques [55]:

- 1- Les prélèvements sont réalisés avant la mise en œuvre du traitement anti-bacillaire. Dans le cas contraire, le traitement sera arrêté 3 jours auparavant.
- 2- Les émissions bacillaires étant discontinues, les prélèvements (crachats, tubages, urines) seront multipliés. Trois prélèvements réalisés trois jours successifs permettent un maximum d'isolement [136].
- 3- Il n'est pas possible de rechercher par culture les mycobactéries dans des prélèvements qui ont subi une fixation par le formol ou par le liquide de Bouin. Ils doivent être recueillis dans des flacons hermétiques stériles à usage unique ne contenant ni additif ni conservateur.
- 4- Le transport des prélèvements vers le laboratoire de bactériologie doit être impérativement rapide. Si l'analyse est différée, ils doivent être conservés à une température de + 4°C afin de préserver la viabilité des bacilles tuberculeux et de limiter la multiplication d'éventuels micro-organismes contaminants [138,139].

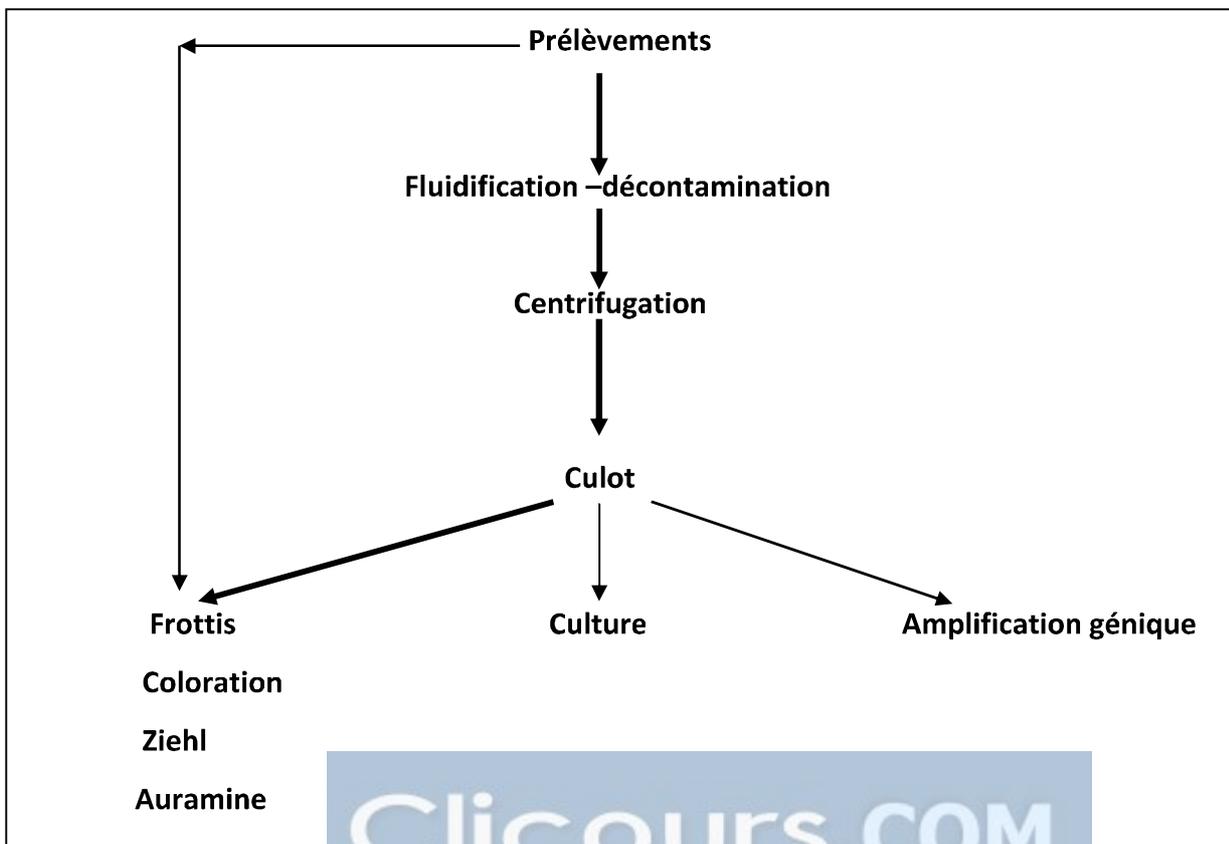


Figure 14 : Organigramme du traitement d'un prélèvement pour mise en évidence des mycobactéries [6].

II.2.3. Examen microscopique [15,55,139]

Il est réalisé sur les frottis du produit pathologique ou du culot de centrifugation obtenu après fluidification-décontamination des produits pathologiques contaminés. Deux colorations sont utilisées : la coloration de Ziehl-Neelsen à chaud et la coloration à l'auramine.

La coloration de Kinyoun est analogue à celle de Ziehl-Neelsen, mais réalisée à froid.

Dans la technique de Ziehl-Neelsen, la fuchsine phéniquée colore en rouge les bacilles qui conservent cette coloration après traitement décolorant par un acide fort (l'acide nitrique dilué au 1/3 ou acide sulfurique dilué au 1/4) et par l'alcool (éthanol à 90°. Le fond de la préparation est ensuite coloré (contre-coloration) au bleu de méthylène. Les bacilles acido-alcool-résistants (B.A.A.R.) apparaissent rouges sur fond bleu (Figures 4, Chapitre I).

La lecture se fait à l'objectif à immersion (X100). Elle est longue car le champ observé est petit.

L'auramine se fixe sur le bacille et le rend fluorescent, après traitement à l'acide-alcool et contre-coloration du fond de la préparation. Celle-ci est examinée au microscope en fluorescence (X16 ou X25). La lame est explorée plus rapidement, le champ observé étant plus grand qu'à l'immersion. Les B.A.A.R. apparaissent fluorescents, brillants sur fond rouge sombre de la préparation (Figure 5).

Ils sont dénombrés par champ microscopique (résultat exprimé quantitativement) (Tableau X).

Tableau X. Interprétation des résultats de l'examen microscopique (méthode de Ziehl et méthode à l'auramine) [6,139].

Résultat	Nombre de bacilles acido-alcool-résistants observés	
	Coloration de Ziehl	Coloration à l'auramine
Absence	0	0
Douteux	1-2 / 200 champs	1-9 / frottis
1+	1-9 / 100 champs	1-9 / 10 champs
2+	1-9 / 10 champs	1-9 / champ
3+	1-9 / champ	10-99 / champ
4+	> 10 / champ	> 100 / champ

Avantages [55,139] :

-Permet de détecter rapidement les tuberculeux les plus contagieux. L'examen microscopique après coloration de Ziehl-Neelsen est rapide. Le résultat peut être acquis si besoin en une heure.

-Malgré ses imperfections, l'examen microscopique des frottis reste un examen clé dans le diagnostic bactériologique de la tuberculose et souvent le seul utilisable dans les pays en voie de développement.

Sensibilité [139] :

L'examen direct est peu sensible. En effet, pour observer les bacilles à l'examen microscopique, il faut que le produit examiné contienne **au moins 10 000 bacilles par millilitre** (Figure 21). La sensibilité est donc faible et seules **50%** des cultures qui seront positives auront été précédées d'un résultat d'examen microscopique positif. Ce test est **rarement positif** dans les **tuberculoses extrapulmonaires** qui sont généralement pauvres en bacilles.

Spécificité [140] :

En ce qui concerne sa spécificité, l'examen microscopique ne reconnaît que des B.A.A.R., propriété partagée par l'ensemble des mycobactéries.

Résultats faussement positifs possibles [56,140]:

-présence de particules donnant un aspect de B.A.A.R. tels que les débris alimentaires (fibres végétales ou grain de pollen) ou précipitations de colorant ou présence d'autres bactéries donnant un aspect de B.A.A.R. (mycobactéries atypiques ou d'autres espèces telles que les *Corynebacterium*, les *Nocardia*, les *gordonia*, les *Tskamurella*, les *Rhodococcus*).

-contamination par la présence de bacilles tuberculeux décollés d'un frottis positif.

Résultats faussement négatifs [56]:

Secondaires à une mauvaise qualité du recueil, de la conservation, de la préparation ou de la coloration en vue de l'examen microscopique de l'échantillon.

II.2.4. Culture :

L'obtention d'une culture est actuellement le plus sûr moyen d'établir le diagnostic bactériologique de la tuberculose et des mycobactérioses [55]. Elle permet d'identifier l'espèce, de réaliser l'étude de sa sensibilité aux antibiotiques et même de mettre en œuvre des études épidémiologiques [6].

C'est un moyen sensible car, théoriquement, tout bacille viable donne naissance à une descendance [55]. La culture est l'élément de référence auquel sont comparées les autres méthodes [55]. Quelle que soit la méthode de culture retenue, la nécessité d'utiliser des milieux enrichis et la croissance lente des mycobactéries, font qu'il est indispensable, avant d'ensemencer les prélèvements provenant de cavités ouvertes, de les décontaminer pour les débarrasser des micro-organismes commensaux dont la croissance plus rapide empêcherait celle des mycobactéries [6].

II.2.4.1. Milieux de culture

II.2.4.1.2. Milieux de culture solides [6]

Représentés par des milieux à l'œuf (les plus utilisés) et par des milieux gélosés

II.2.4.1.2.1. Milieux à l'œuf de Löwenstein-Jensen et Colestos

Les milieux à l'œuf contiennent des œufs ou des extraits d'œufs, qui apportent des vitamines et des inhibiteurs de diverses substances toxiques, de l'amidon de pomme de terre, des sels minéraux, du glycérol et du vert malachite, colorant qui inhibe la croissance d'éventuels contaminants. La plupart des espèces de mycobactéries et en particulier les bacilles de la tuberculose s'y développent facilement. Les colonies de *M. tuberculosis*, présentent sur le milieu de Löwenstein-Jensen l'aspect caractéristique bien connu "en chou fleur" (colonies de couleur crème rugueuses, d'aspect verruqueux) (Figures 6a et 6b) (Tableau I) (voir chapitre I) [41].

Le milieu de Colestos est un milieu enrichi. Il contient davantage d'œuf, du pyruvate de sodium, de la cendre d'antracite et une solution d'oligo-éléments. Il est particulièrement indiqué pour la croissance de mycobactéries exigeantes : dysgoniques (telles que *M. bovis*) [141], *M. tuberculosis* ainsi pour celle de certaines mycobactéries atypiques exigeantes : *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. triplex*... .

Le milieu de Löwenstein-Jensen est le milieu de référence, recommandé par l'UICTMR (Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires) d'autant plus qu'il est d'un prix de revient moindre que celui des autres milieux de culture [55].

Ces milieux de cultures sont placés dans des tubes qui sont inoculés chacun d'une quantité de 0,2 ml du culot de centrifugation. On les maintient dans des étuves à une température de 37°C (pour la culture des bacilles tuberculeux) sur des portoirs spéciaux en position inclinée, les tubes ne seront fermés qu'après évaporation du

liquide, le milieu doit être sec mais non desséché pour que les mycobactéries puissent s'y développer (Figures 15a, 15b et 15c).

Les milieux doivent être incubés pendant 8 semaines au moins et mieux pendant 12 semaines. Les prélèvements dont l'examen direct était positif et dont les cultures n'apparaissent pas seront conservés encore plus longtemps.

II.2.4.1.2.2. Milieux gélosés 7H de Middlebrook (7H10 - 7H11)

Ce sont des milieux semi-synthétiques. Ils dérivent du milieu de Middelbrook. Ces milieux ne se conservent qu'un mois à + 4°C, et leur prix de revient est élevé. Ils peuvent être également utilisés pour l'étude des antibiotiques [55].

En plus des constituants habituels (sels minéraux, glucose, fraction V d'albumine bovine), ils sont supplémentés en acides aminés, pyruvate de sodium, et contiennent de la catalase. On les désigne selon leur degré d'enrichissement : 7H10 (enrichi en acide oléique, albumine, dextrose et catalase) ; 7H11 (enrichi en hydrolysate de caséine).

Ils se présentent sous forme de poudre avec un supplément liquide en flacon, ce qui permet de les couler en boîtes de Pétri ou en tubes.

II.2.4.1.2.3. Lecture et rendu des résultats des cultures sur les milieux solides [6,125,137] (Tableau XI)

Le délai d'apparition des colonies est généralement long : 3 à 8 semaines pour le milieu de Löwenstein-Jensen et 17 à 21 jours pour les milieux gélosés.

La surveillance journalière des cultures pendant la première semaine d'incubation permet d'éliminer rapidement les tubes contaminés. Elle permet aussi de détecter les mycobactéries à croissance rapide (mycobactéries atypiques en général).

Pour les mycobactéries à croissance lente (sachant que le temps de division des mycobactéries du complexe *tuberculosis* est de 13 à 20 heures), la lecture est faite une fois par semaine. L'aspect caractéristique en chou-fleur, des colonies de *M. tuberculosis* est rarement reconnu avant 21 à 28 jours d'incubation.

Si la culture est négative au 28^{ème} jour, on fait une deuxième lecture au 42^{ème} jour. Si elle est toujours négative, on la remet à l'étuve pendant un mois supplémentaire. Certains bacilles humains ou bovins traités par des antibiotiques et certaines mycobactéries atypiques à croissance très lente peuvent apparaître au-

delà de 42 jours (la culture de *M. africanum*, *M. bovis* et de certaines mycobactéries atypiques comme *M. xenopi*) apparaît rarement avant 6 à 8 semaines. Une dernière lecture est effectuée au 72^{ème} jour.

Le rendu des cultures positives doit faire apparaître la date à laquelle les colonies ont été observées, le nom de l'espèce de mycobactérie et le nombre de colonies isolées.

La quantification des colonies permet de suivre l'efficacité du traitement. Le nombre est habituellement formulé de la façon suivante : nombre exact si inférieur à 20, 20 à 100, 100 à 200 et supérieur à 200 colonies [124] (Tableau XI).

Les bacilles de la tuberculose (*M. tuberculosis*, *M. africanum* et *M. bovis*) sont des pathogènes spécifiques et l'isolement de leur colonies même en nombre limité, signe habituellement la maladie tuberculeuse.

Tableau XI : Rendu des résultats de la culture [124]

Résultats	Enregistrement
Pas de colonie	Négative
1-19 colonies	Nombre de colonies comptées
20-100 colonies	Positive 1+ ou +
100-200 colonies	Positive 2+ ou ++
Colonies confluentes	Positive 3+ ou +++
Culture contaminée	Culture contaminée, refaire un autre Prélèvement

Les épreuves biochimiques sont remplacées actuellement selon les moyens par l'hybridation avec des sondes nucléiques complémentaires de séquences d'ARN ribosomal, spécifiques de certaines mycobactéries, notamment de celles complexe *tuberculosis* (Accuprobe®, GeneProbe®) dont le temps de réalisation est court d'environ 2 heures par rapport aux 3 semaines nécessaires à la pratique d'une identification biochimique [142]. Le seul inconvénient est que cette technique ne permet pas la distinction entre les différentes espèces au sein du complexe *tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum* et *M. microti* [142,143]. (voir techniques d'identification des espèces mycobactériennes en culture : paragraphe II.4.2.4, chapitre II).



Figure 15a: Milieu de Löwenstein-Jensen avec des colonies de *MT*.



Figure 15b : Etuve servant aux cultures.



Figure 15c : Milieux de culture de Löwenstein -Jensen sur des portoirs en position inclinée dans l'étuve.

Figures 15: Culture sur le milieu de Löwenstein-Jensen (Figures 15a, 15b et 15c) (Collection Dr A. Chiali).

II.2.4.1.3. Milieux de culture liquides

L'augmentation du nombre des tuberculoses, en particulier chez les malades immunodéprimés et l'apparition de souches multirésistantes, ont conduit à la mise au point de nouvelles méthodes de culture pour pallier la lenteur du développement des colonies sur milieux solides [144]. Toutes ces méthodes sont basées sur l'utilisation de milieux de culture liquides. Placée en atmosphère confinée, la croissance microbienne est mise en évidence, soit par la mesure de consommation d'oxygène, soit par la mesure de production d'anhydride carbonique. Il est recommandé d'ensemencer en plus du milieu liquide, un milieu solide [144]. En effet, l'utilisation des milieux liquides ne permet ni l'observation ni le dénombrement des colonies. Les deux types de milieux sont complémentaires et la sensibilité des résultats est améliorée [6].

Les milieux liquides 7H9- 7H12- 7H13 de Middlebrook complétés de différents suppléments, le milieu de Dubos et le milieu de Kirchner, sont restés longtemps peu utilisés. L'usage d'automates couplant une incubation à un système de détection automatique de croissance, a redonné un intérêt à ces milieux, d'autant que les délais de positivité sont souvent plus brefs que pour les milieux solides (une dizaine de jours pour *Mycobacterium tuberculosis*). Par ailleurs, certaines études ont montré que la sensibilité de la recherche des mycobactéries était supérieure lorsque les cultures étaient pratiquées sur ces milieux [54].

L'inconvénient pratique majeur est le risque de contamination de ces milieux liquides [48,15]. Par conséquent leur utilisation en routine pour l'isolement des mycobactéries a été rendu possible grâce à l'adjonction d'un cocktail d'antibiotiques. Le mélange PANTAV associe polymyxine, amphotéricine, acide nalidixique, triméthoprim, azlocilline, vancomycine et rend le milieu sélectif [6,55].

Différentes possibilités

1-Méthodes Bactec 460 (Becton Dickinson) [6,15,55]: utilisent les milieux 7H12 et 7H13 de Middelbrook (Figure 16). L'incubation se fait en présence d'acide palmitique marqué au 14 C. Le métabolisme mycobactérien conduit à la formation de 14 CO₂. Des mesures séquentielles de l'atmosphère des flacons de culture indiquent la

présence d'une croissance mesurée par un G.I. (Growth Index) qui représente un chiffre qui s'échelonne de 0 (absence totale de CO₂ radiomarqué) à 999 (quantité maximale détectable par l'appareil).



Figure 16: BACTEC-MGIT:

Détection d'un complexe fluorescent après réduction de la tension d'O₂ [136].

Cette méthode est très performante et peut servir en plus à la détermination de la sensibilité aux antituberculeux. Ils sont bien adaptés pour l'utilisation de sondes nucléiques et à l'analyse des acides mycoliques. L'inconvénient majeur est représenté par l'utilisation des radioéléments. C'est pour cette raison que les systèmes suivants ont été développés.

2-Méthodes MGIT (Becton Dickinson) pour mycobacteria Growth indicator tube [15,55]

Des tubes de bouillons 7H9 de Middelbrook contiennent un indicateur (sel de ruthénium) qui émet une fluorescence dont l'intensité est proportionnellement corrélée à la baisse de la pression partielle en oxygène qui se produit au décours de la croissance des mycobactéries (Figure 17).

La lecture peut être visuelle à l'aide d'une lampe à ultra violet, ou automatique grâce à l'aide d'un automate (Bactec-MGIT 960 (Figure 18) ou 9000 MB, Becton Dickinson).

Avantages : son principe permet d'éviter l'usage des produits radioactifs. La lecture est automatisée.

Inconvénients : la mise en culture de sang, de prélèvements hémorragiques et de selles est impossible (interférence de l'hémoglobine).



Figure 17: Milieu liquide
MGIT+ [38].



Figure 18: Automate Bactec 960
(MGIT) [38].

3- Méthode MB /Bact T (Becton Dickinson) [6,55] : méthode proche de la précédente qui utilise comme indicateur une pastille sensible à la variation de pH située au fond de culture. Elle détecte l'acidification du milieu corollaire du métabolisme microbien. La lecture est automatisée.

4- Méthode MB Redox : elle fait usage du milieu de Kirchner et contient un indicateur incolore (sel de tétrazolium) qui se transforme en formazan (précipitation de grains rouges) lorsque la pression partielle en oxygène diminue [6] (Figure 19). D'autres indicateurs peuvent être utilisés tel que la résazurine et le bleu d'alarcar qui donnent un virage du bleu au rose [134].

Ces méthodes colorimétriques sont utilisées pour détecter la sensibilité ou la résistance de *M. tuberculosis* aux antituberculeux [134].



Figure 19: Méthode de milieu liquide MB

Redox (précipitation de grains rouges indiquant la baisse de la pression partielle en oxygène) [145].

5- Méthode Bact Alert : Méthode colorimétrique mesurant la pression en CO₂ (Figure 20).



Figure 20 : Flacons pour la culture Bact Alert [136].

Sensibilité de la culture

La positivité de la culture est le moyen **le plus sensible** de poser le diagnostic d'une mycobactériose [54,136,139] (Figure 21). Malheureusement, elle est lente. En ce qui concerne *M. tuberculosis*, avec le milieu à l'œuf les colonies ne sont visibles qu'après 20 jours (28 jours en moyenne) alors qu'en milieu liquide le délai moyen est de 12 jours quand le frottis est positif et de 18 jours quand il est négatif [55].

L'usage d'un milieu liquide semble être un bon choix, au détriment d'un coût supérieur, compte tenu des délais de détection plus courts et d'une **meilleure sensibilité** de détection des cas de tuberculoses [6,135,146], en particulier dans les échantillons **paucibacillaires**. Cependant, l'usage d'un milieu solide doit être conservé [6].

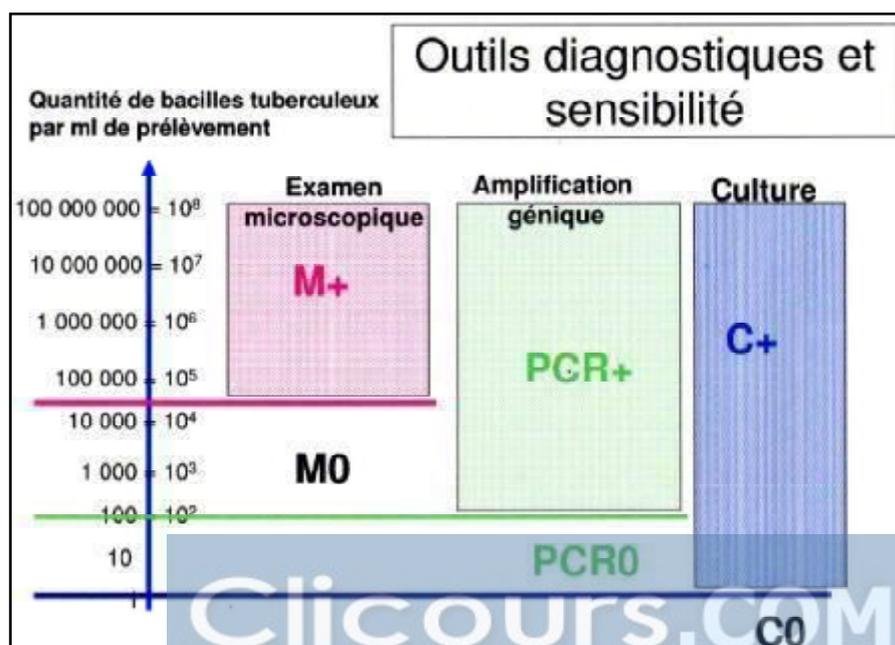


Figure 21 : Sensibilité des outils de diagnostic de la tuberculose [147].

II.2.5. Autres moyens de diagnostic de la tuberculose

II.2.5.1. Détection de constituants de la paroi mycobactérienne

II.2.5.1.1. Détection de l'acide tuberculo-stéarique [135]

L'acide tuberculo-stéarique est un acide gras saturé à longue chaîne qui constitue la paroi des bactéries de la famille des actinomycétales. Il peut être détecté en quantité femto molaire (10^{-15} M) dans un produit pathologique par chromatographie gazeuse-spectrophotométrie de masse en quelques heures. Cette technique apparaît plus sensible que l'examen microscopique et aussi sensible que la culture pour le diagnostic de la méningite tuberculeuse.

II.2.5.1.2. Identification des différentes espèces de mycobactéries par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) [142,146]

Consiste en la détection des acides mycoliques sur des mycobactéries en culture. Cette méthode peut permettre l'identification d'une cinquantaine d'espèces de mycobactéries en 4 heures environ.

II.2.5.2. Tests utilisant les phages : deux techniques

II.2.5.2.1. Utilisation de virus mycobactériophages porteurs du gène de la luciférase [142,148,149]

C'est surtout le phage TM4 qui a été utilisé dans cette technique. C'est un outil rapide et performant pour détecter le *M. tuberculosis* dans les prélèvements et déterminer sa sensibilité aux antituberculeux.

Si on infecte des mycobactéries vivantes avec ces mycobactériophages, ces phages vont s'adsorber à la surface des bactéries de façon spécifique et le génome du phage va être injecté dans la mycobactérie et va se répliquer. Le gène luciférase étant sous contrôle d'un promoteur mycobactérien, celui-ci sera transcrit puis traduit en luciférase. Cette enzyme s'accumulera alors dans la bactérie. Lorsqu'on ajoute le substrat de l'enzyme, la luciférine, il y a émission de photons que l'on détecte à l'aide d'un luminomètre (grâce à une source d'ATP fournie par la cellule infectée) (Figure 22). Le résultat est exprimé en RLU (unité relative de lumière). Le mycobactériophage-luciférase (ou phage reporteur) permet de détecter la présence de mycobactéries dans un échantillon clinique et l'intensité d'émission des photons est proportionnelle à la quantité de mycobactéries présentes.

La sensibilité aux antituberculeux de *M. tuberculosis* peut être déterminée par cette technique en réalisant le test en présence de diverses concentrations d'antituberculeux.

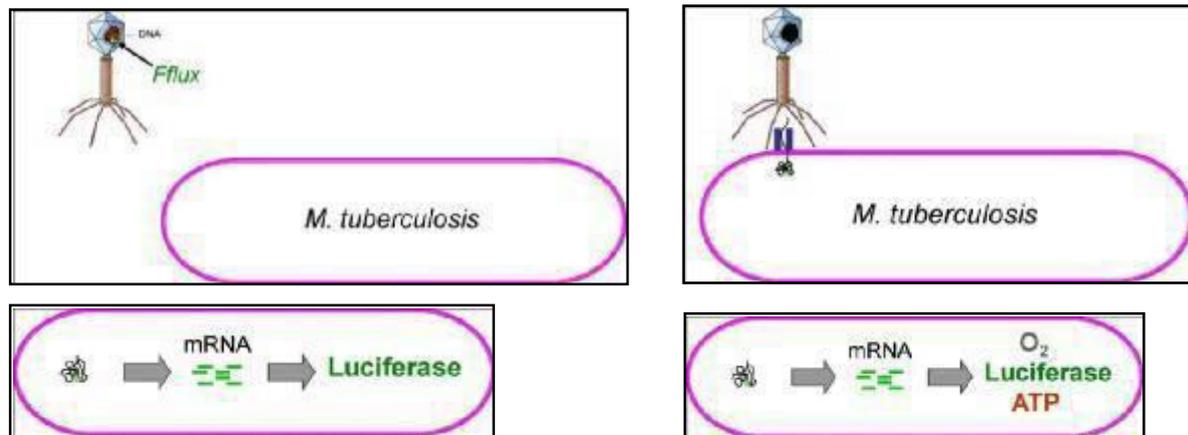


Figure 22: Virus mycobactériophage porteur du gène de la luciférase.

Détection du *M.tuberculosis* par l'utilisation des virus mycobactériophages porteurs du gène de la luciférase qui injectent leur génome à l'intérieur du bacille tuberculeux. Le résultat final est l'émission de photons grâce à une source d'énergie (ATP) fournie par la cellule [148].

II.2.5.2.2. Un test utilisant une autre méthode de détection [134,149]

Le principe de ce test repose sur la capacité de certains bactériophages à pénétrer à l'intérieur de bactéries par des récepteurs spécifiques et à ne se multiplier que dans les souches de *M. tuberculosis* «vivantes» comme le mycobactériophage D29. Une suspension de bactériophages est mise en contact avec une culture bactérienne ou un échantillon clinique. Si des cellules de *M. tuberculosis* sont présentes et viables, elles seront infectées par les phages qui vont y commencer leur processus d'amplification.

Au terme de la réplication et après lyse de la cellule cible, la présence de phages néo-formés sera mise en évidence par la formation de plages de lyse sur une culture confluite d'une mycobactérie réceptive non pathogène : *M. smegmatis*.

II.3. ANATOMIE PATHOLOGIQUE [125]

La multiplication des bacilles de la tuberculose dans n'importe quel site de l'organisme humain provoque une inflammation spécifique avec formation d'un granulome caractéristique [136].

En cas de suspicion de tuberculose cutanée, l'examen anatomopathologique se résume en l'examen microscopique d'un fragment cutané prélevé

chirurgicalement au niveau de la peau lésée (biopsie).

On peut procéder à un examen macroscopique en cas de lésion fistulisée (adénite ou abcès) ou de tuberculose ulcéreuse orificielle.

L'anatomopathologie représente une aide au diagnostic, lorsque celui-ci ne peut pas être fait par les techniques de bactériologie. Cet examen est surtout utile dans les tuberculoses extra-pulmonaires. Il est parfois possible de coupler des examens d'anatomopathologie avec des techniques de bactériologie.

II.3.1. Aspects macroscopiques

Le caséum ou nécrose caséuse est spécifique de la tuberculose. Récent, il est blanc jaunâtre, pâteux, onctueux rappelant le fromage blanc. Plus ancien il devient grisâtre et peut s'imprégner de calcaire. Lorsque du caséum est retrouvé (ponction d'abcès froid, fistulisation d'un ganglion...), le diagnostic de tuberculose est immédiatement évoqué.

La tuberculose peut être suspectée devant des lésions macroscopiques diverses. Certaines de ces lésions peuvent être observées durant l'examen clinique d'un malade :

Les ulcérations, à la surface de la peau ou des muqueuses, sont des pertes de substance irrégulières à bords décollés, à fond sale et irrégulier contenant de la nécrose caséuse.

Les fistules se forment en l'absence d'un conduit de drainage naturel (adénite, abcès froid).

II.3.2. Aspects microscopiques

L'atteinte d'un organe par le bacille de la tuberculose provoque un phénomène inflammatoire au niveau du site atteint. L'inflammation se déroule en trois stades successifs qui peuvent être intriqués (aigu, subaigu et chronique), se traduisant par différents aspects histologiques.

Au stade aigu

L'infection par le bacille tuberculeux déclenche d'abord une réaction inflammatoire non spécifique fugace qui se traduit par des lésions exsudatives peu spécifiques de la tuberculose et correspondant à une inflammation banale. Le foyer inflammatoire est le siège d'un exsudat séro fibrineux avec de nombreux macrophages à l'intérieur.

A ce stade, le bacille de Koch peut être mis en évidence au sein de ce foyer inflammatoire [136].

Au stade subaigu

La lyse des bacilles libère les phospholipides de leur capsule, qui provoquent une réaction tissulaire spécifique avec formation de follicules appelés les « follicules de Koëster ». Deux types de lésions folliculaires peuvent être observés :

• Le follicule épithélio-gigantocellulaire

Foyer arrondi constitué :

- de nombreuses cellules épithélioïdes. Ce sont des monocytes à noyau ovoïde, à cytoplasme abondant et à limites cytoplasmiques indistinctes.
- de quelques cellules géantes de Langhans disposées généralement au centre du follicule. Ce sont de grosses cellules à cytoplasme abondant, à limites floues et à noyaux multiples disposés en couronne ou en fer à cheval. Les cellules de Langhans sont constituées à partir de la fusion de cellules épithélioïdes. Les cellules épithélioïdes et les cellules de Langhans proviennent de la métamorphose des monocytes sous l'action des lymphokines.
- d'une couronne périphérique de lymphocytes.

Ce follicule ne contient pas de nécrose et n'est pas spécifique de la tuberculose. Il est commun aux « granulomatoses » : lèpre tuberculoïde, sarcoïdose... .

• Le follicule caséux (Figure 23)

Le follicule épithélio-gigantocellulaire présente une nécrose centrale caséuse. Cette lésion caséo-folliculaire est très spécifique de la tuberculose.

La nécrose caséuse est une nécrose d'homogénéisation, d'aspect éosinophile, finement granuleuse, anhiste.

Au stade chronique

Le follicule fibreux : l'évolution du follicule tuberculeux se fait progressivement vers un follicule fibreux. Les fibres de collagène envahissent le foyer tuberculeux qui est limité par une coque fibreuse avec fibroblastes et lymphocytes formant un follicule fibro-caséux qui se transforme ensuite en un follicule entièrement fibreux. Ce follicule est souvent le siège d'une surcharge calcaire et peut être totalement calcifié.

Parmi toutes ces lésions, seules les lésions folliculaires avec nécrose caséuse sont spécifiques pour confirmer le diagnostic de tuberculose, de même

que la détection du bacille sur des coupes histologiques après les colorations appropriées.

On peut observer des follicules isolés ou le plus souvent groupés coalescents, de taille et de type variables. Le plus souvent les lésions sont multiples et visibles aux différents stades aigu, subaigu ou chronique.

Dans la tuberculose cutanée l'histologie est un élément important du diagnostic. La lésion caractéristique mais non spécifique de la tuberculose est le follicule épithélio-gigantocellulaire. Les follicules peuvent fusionner en tubercules dits composés (se traduisant cliniquement par l'apparition de grains lupoïdes « gelée de pomme » à la vitropression). L'aspect spécifique de follicule caséeux est rarement observé [8].

Conclusion

Si la bactériologie reste encore aujourd'hui l'examen spécifique pour le diagnostic de la tuberculose, l'examen anatomo-pathologique garde une place pour le diagnostic de la tuberculose, en particulier pour les localisations extra-pulmonaires.

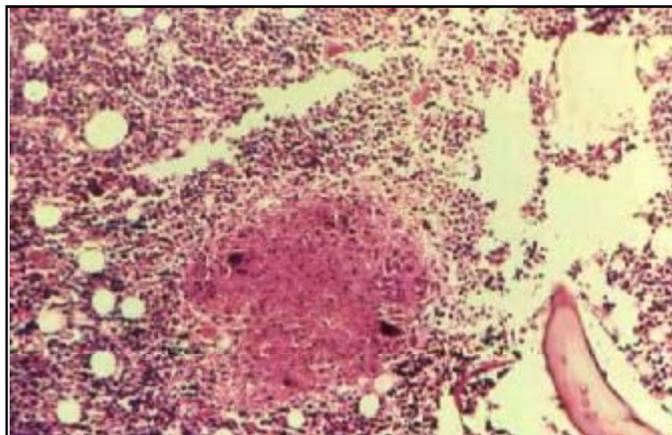


Figure 23 : Aspect histologique du granulome tuberculoïde avec nécrose caséuse centrale [50].

II.4. TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE (Figure 30)

II.4.1. Introduction [150]

D'une façon générale, la biologie moléculaire représente la section de la biologie qui étudie les macromolécules extra et intracellulaires, tant d'un point de vue fondamental que des applications qui peuvent en découler en pathologie voire en

thérapeutique. Cette définition inclut l'étude des différents acides nucléiques, ADN (acide désoxyribonucléique) et ARN (acide ribonucléique), et des protéines, mais aussi de vastes complexes moléculaires associant lipides complexes, polysaccharides, protéines et acides nucléiques.

Toutefois, le terme de biologie moléculaire est utilisé pour l'étude de la structure, du fonctionnement et des anomalies des acides nucléiques. L'acte de naissance de la biologie moléculaire date de l'année 1953, année de la découverte de la double hélice d'ADN par Watson et Crick.

La biologie moléculaire est considérée comme un outil servant à la compréhension des mécanismes intervenant dans la genèse de nombreuses pathologies liées d'une façon ou d'une autre à une anomalie du matériel génétique et/ou de son fonctionnement, telles que les maladies "génétiques" héréditaires et les affections sporadiques liées à un dysfonctionnement acquis d'un génome (les maladies tumorales, inflammatoires, dégénératives...etc).

La biologie moléculaire représente aussi un moyen extrêmement puissant pour **identifier** la présence d'un **agent infectieux** dans un tissu.

Biologie moléculaire et diagnostic en Dermatologie :

Les applications diagnostiques de la biologie moléculaire en Dermatologie sont surtout orientées vers les maladies infectieuses, les lymphomes et les gnodermatoses.

Maladies infectieuses :

***Principe :**

Il s'agit de rechercher la présence de séquences spécifiques de génomes bactériens ou viraux et/ou des ARNm correspondants dans les lésions ou dans les liquides biologiques.

Les techniques les plus utilisées sont l'hybridation in situ (HIS) et la PCR [151].

Amplification par réaction de polymérisation en chaîne ou "PCR" :

Représente l'une des différentes techniques de la biologie moléculaire où l'analyse de l'ADN a été considérablement simplifiée par l'amplification de la région à étudier, c'est-à-dire par la production d'un très grand nombre de copies identiques de cette région.

Après le clonage plasmidique dans les bactéries, c'est la réaction de "PCR" qui s'est imposée par sa simplicité au point de devenir une des techniques de routine de la biologie moléculaire. Un million environ de copies de la région amplifiée peuvent être obtenues après 40 cycles.

D'autre part, il faut cibler une partie du génome de l'agent recherché. En revanche, les résultats seront plus ou moins précis selon que le gène-cible soit spécifique à un germe précis ou commun à une famille d'agents plus ou moins proche.

***En ce qui concerne l'identification des mycobactéries :**

C'est surtout la PCR qui est utilisée pour la détection de ces bactéries de culture difficile et souvent peu nombreuses dans les lésions.

Elle peut être utilisée pour la lèpre, la tuberculose [152-154] et les mycobactéries atypiques (permettant un diagnostic de type), suivant les amorces utilisées [154,155]. Ses résultats sont en principe beaucoup plus rapides que ceux de la mise en culture [156,157].

II.4.2. Techniques de biologie moléculaire et diagnostic de la tuberculose cutanée

II.4.2.1. ADN [127,158] (Figure 24)

L'ADN est une molécule représentée par une succession répétée de motifs comprenant un sucre et un phosphate formant sa séquence constante. Au niveau du sucre vient s'agencer, une des quatre bases organiques : la thymine, l'adénine, la cytosine et la guanine, désignées par leurs initiales : T, A, C et G. Ces bases sont associées selon un ordre caractéristique définissant ainsi la séquence de la molécule. Un sucre et une base constituent un nucléoside. Par ailleurs, un sucre, une base et un phosphate réalisent un nucléotide.

La molécule d'ADN est polarisée, avec un phosphate à son extrémité 5' et un hydroxyle à l'extrémité 3'. C'est une molécule très résistante.

L'ADN est une molécule bicaténaire dont les deux brins ont chacun une orientation inverse, ils sont antiparallèles et le tout réalise une double hélice. Les bases correspondantes seront associées (par des liaisons hydrogènes) deux par deux (réalisant les "barreaux" de l'hélice) en respectant l'appariement de l'adénine avec la thymine et la cytosine avec la guanine. On parle alors de la complémentarité

des bases. Une forte élévation de la température (100°C c'est-à-dire jusqu'à l'ébullition) permet la séparation des deux brins, c'est la **dénaturation**.

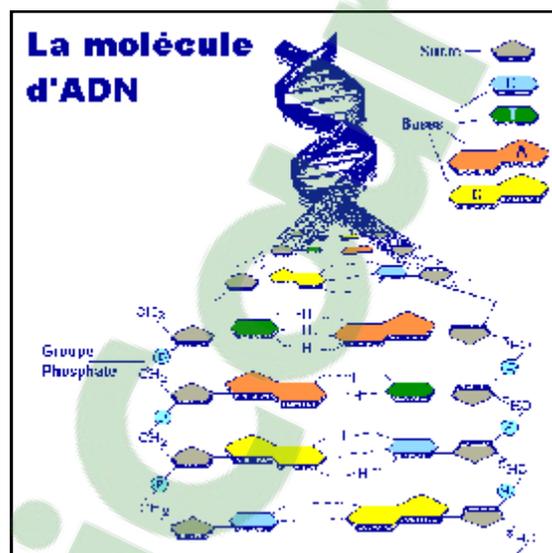
Une simple diminution de la température permet la réassociation des deux brins, c'est la **renaturation**. Ces grandes variations thermiques permettent à la cellule de doubler son capital génétique et de le transmettre aux cellules filles.

Ces réactions de dénaturation et renaturation sont en application courante dans les laboratoires de biologie moléculaire (sondes moléculaires ou sondes nucléotidiques, réaction de polymérisation en chaîne...).

Propriétés particulières de l'ADN

L'ADN est le support de l'information génétique des cellules. Cette information est représentée par l'ordre de succession ou séquence des bases puriques (adénine et guanine) et des bases pyrimidiques (cytosine et thymine) le long de la molécule, avec un code nucléotides-acides aminés bien connu et universel.

La réplication de l'ADN permet la transmission des caractères génétiques à travers des générations. L'utilisation de l'information génétique est possible grâce à la faculté de transcription de l'ADN en ARN.



Abréviations : A : adénine, C : cytosine, G : guanine, T : thymine

Figure 24 : Structure de la molécule d'ADN [159].

La réplication de l'ADN (Figure 25)

La découverte de la structure de l'ADN par Watson et Crick qui proposent déjà en 1953 un mécanisme simple permettant la duplication de l'ADN. [La détermination de cette structure a permis par la suite de comprendre l'ensemble des mécanismes moléculaires de l'expression génétique : réplication de l'ADN, transcription des ARN, code génétique....

Ils ont démontré que chaque brin d'ADN est un double miroir de celui qui lui fait face, ce qui permet d'expliquer comment l'ADN peut se recopier et se reproduire. Les deux chaînes d'ADN sont complémentaires. Au cours de la réplication chaque brin de la molécule d'ADN sert de matrice pour la synthèse d'un brin complémentaire et conduit à la formation de deux molécules bicaténares identiques à la molécule mère. En 1958, l'expérience de Meselson et Stahl a permis de démontrer le caractère semi-conservatif de la multiplication de la molécule d'ADN chez les bactéries. La synthèse se fait dans le sens $5' \rightarrow 3'$ et nécessite la présence d'une amorce, d'enzymes triphosphates libres et de nucléotides.

La réplication d'ADN ne peut se faire que sur des chromosomes bicaténares. Concernant l'amorce, il a été montré que la réplication de l'ADN est précédée par la formation d'un court fragment d'ARN complémentaire du segment d'ADN matrice. Cette amorce d'ARN est réalisée grâce à l'intervention d'une enzyme, l'ARN polymérase. C'est sur l'extrémité 3'-OH de ce court fragment d'ARN que va être synthétisée la chaîne d'ADN.

Les ADN polymérases ne peuvent synthétiser d'ADN que dans le sens $5' \rightarrow 3'$. Or, la réplication donne naissance simultanément à deux brins antiparallèles.

La synthèse se fait donc selon le sens de propagation de la fourche sur l'un des brins matrice (brin direct) et en sens inverse sur l'autre brin matrice (brin retardé).

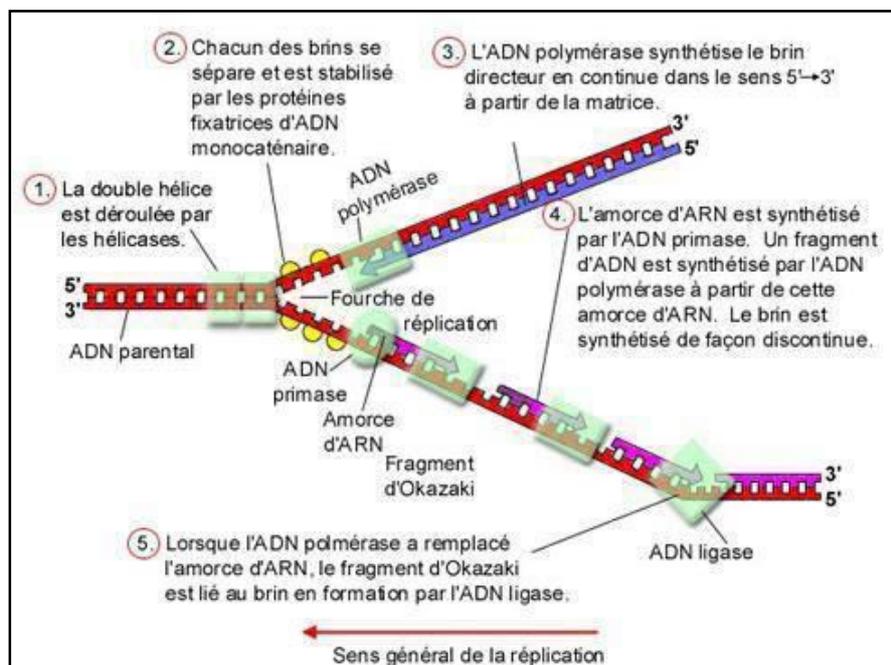


Figure 25 : Synthèse de l'ADN [160].

Les phénomènes de réparations [127]

L'ADN polymérase est dotée d'une fonction de vérification et de correction des erreurs qui ne laisse persister qu'une seule base erronée sur 10^8 . Après sa réplication, l'ADN subit en permanence des agressions qui induisent des mutations. Afin de préserver l'intégrité de l'information génétique contenue dans l'ADN, des systèmes de réparation ou "systèmes SOS" agissent à tout moment.

II.4.2.2. Amplification de l'ADN par réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Technique inventée en 1983 par K. Mullis et brevetée en 1985, utilisée quelques années plus tard au niveau de tous les laboratoires de biologie moléculaire. Compte tenu du manque de sensibilité et de spécificité de l'examen microscopique, des délais de la culture même réduits par l'utilisation des milieux liquides font que le diagnostic de la tuberculose est long. On avait espéré, quand en 1990 la PCR (Polymerase Chain Reaction) a été décrite, voir le temps nécessaire au diagnostic de la lèpre et de la tuberculose ramené à 24 heures [6]. Malgré ses insuffisances, la PCR reste un outil utilisable pour l'identification des espèces, pour l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques, pour la comparaison des génomes entre eux, ce qui peut permettre des études épidémiologiques intéressantes.

II.4.2.2.1. Principe de la PCR [6] (Figure 26)

La PCR est une technique d'amplification de déterminants génétiques (gène, séquences d'insertion, séquences répétées.....) portés par le chromosome bactérien, jusqu'à un niveau suffisant pour qu'ils puissent être détectés et identifiés.

Après obtention du culot fluidification-décontamination, les mycobactéries présentes sont lysées par différents moyens (S.D.S. (dodécylsulfate de sodium), ultrasons, choc thermique). Cette étape permet de libérer leur ADN. C'est sur celui-ci que se trouve la séquence à amplifier. Pour que la réaction ait lieu, il faut que dans le milieu se trouvent :

- les 4 désoxyribonucléotides (d NTPs),
- la DNA polymérase (Taq Polymérase thermostable de *Thermophilus aquaticus*),
- le tampon contenant $MgCl_2$,
- l'ADN à amplifier,

- les deux oligonucléotides complémentaires des brins opposés de l'ADN à amplifier (primers ou amorces).

La réaction de l'amplification débute par le chauffage de l'ADN à 94-95°C pour le dénaturer (opération qui consiste à séparer les deux brins l'un de l'autre par rupture par la chaleur des liaisons H-H qui unissent les deux chaînes). On baisse la température à 50°-60°C et les primers se fixent en amont du côté 3' de la séquence à amplifier. La température est montée à 72°C, température optimale pour le fonctionnement de la Taq Polymérase. La synthèse se déroule en sens inverse sur chaque brin en prenant le primer comme amorce. Un double brin est formé au niveau de la séquence à amplifier. La multiplication des cycles (30 à 40) permet une multiplication exponentielle de la séquence de l'ADN à amplifier et en quelques heures, on obtient de l'ordre de 10^6 copies. La présence des amplicons est alors révélée, soit par électrophorèse en gel en présence de bromure d'éthidium et comparaison avec une échelle témoin constituée d'oligonucléotides de poids moléculaire connu, soit par hybridation avec une sonde spécifique dans une opération de type Southern (transfert du gel sur une membrane sur laquelle on applique les sondes marquées complémentaires de l'amplicon obtenu).

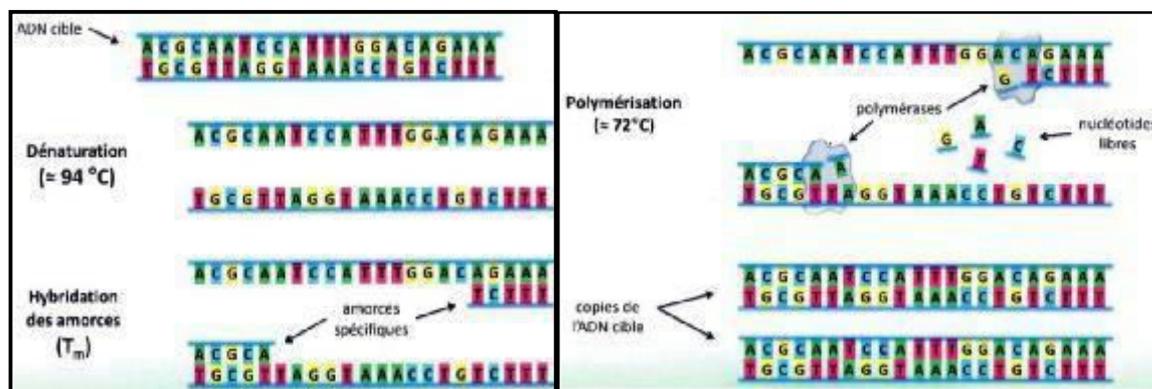


Figure 26: Etapes de la PCR classique [161].

II.4.2.2.2. Techniques [6,142]

La méthode originale appliquée au diagnostic de la tuberculose prenait pour cible la séquence d'insertion *IS6110* et l'amplifiait avec la Taq Polymérase selon le brevet pris par CETUS. Ce brevet a été acquis par la société Roche Diagnostic. Par la suite d'autres techniques décrites. Plusieurs firmes ont, à partir de 1995, commercialisé des kits qui mettent à la portée des laboratoires des méthodes et des réactifs standardisés. Leur utilisation a permis un grand progrès en palliant la grande

dispersion des réactifs "maison" qui dans les diverses évaluations faisant une grande variabilité des résultats [162,163].

II.4.2.2.1. Test d'amplification Amplicor® (Roche) [6,164]

Il permet la mise en évidence des mycobactéries du complexe *tuberculosis* (MTB) et le *Mycobacterium avium-intracellulare*. Son principe utilise une amplification par une Taq Polymérase de l'ADN codant pour une partie spécifique de l'ARNr16S. Ce test permet la révélation des amplicons par une réaction colorée après réalisation d'une hybridation en microplaque.

° Dans ce test la thymine est remplacée par l'uracile. Les amplicons résultant de la réaction incluent l'uridine à la place de la thymine et sont hydrolysés par contact avec l'uridine glycosylase (Ampérase LD®) qui respecte les ADN contenant de la thymine. Le traitement du tube réaction avec cette enzyme permettra la destruction de l'amplicon contaminant mais respectera l'ADN des micro-organismes à amplifier.

° La présence d'un "contrôle interne" permet d'éviter les faux négatifs liés à la présence d'inhibiteurs de la PCR.

Les réactions d'amplification et de détection peuvent être réalisées dans un automate le "Cobas Amplicor MTB".

II.4.2.2.2. T.M.A. (Transcription Mediated Amplification) Gen-Probe ou amplified *M. tuberculosis* direct test (AMTDT) du laboratoire bioMérieux [6,142]

Cette technique n'est validée que pour les prélèvements pulmonaires mais n'inclut ni contrôle interne ni détection d'amplicons parasites contaminants.

Ce test est spécifique des mycobactéries du complexe *M. tuberculosis*, à savoir *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettii*, mais ne différencie pas ces espèces entre elle. Il repose sur une méthode d'amplification isotherme (42°C) d'une séquence spécifique de l'ARNr 16S mycobactérien. La cible c'est un ARNr simple brin (monobrin) qui est amplifié via un intermédiaire d'ADN. Elle consiste en des cycles continus de transcription inverse et de transcription générant de multiples copies d'ARNr. La détection des séquences d'ARNr amplifiées se fait par hybridation d'une sonde d'ADN complémentaire marquée à l'ester d'acridium. La sonde forme avec ces séquences spécifiques des hybrides stables ARN-ADN. Après l'étape de sélection, le signal lumineux émis par les sondes hybridées est mesuré à l'aide d'un luminomètre et exprimé en RLU.

II.4.2.2.3. S.D.A. (Strand displacement Amplification) BD Probe Tec TM^{ET} DTB assay [6]

La méthode d'amplification par déplacement d'un brin d'ADN est une méthode isothermique.

Lorsque les amorces oligonucléotidiques sont hybridées sur l'ADN cible, une ADN polymérase déficiente en exonucléase appelée "Klenow exo" synthétise une copie du fragment de cet ADN cible qui, après action d'une endonucléase de restriction spécifique *Hinc II* est coupée et déplacée. Le brin déplacé est hybridé avec une amorce antisens contenant le site de restriction spécifique *Hinc II*. La succession des réactions d'hybridation d'extension puis de déplacement du segment d'ADN cible dans les deux sens de lecture permettant la réaction d'amplification. La détection des amplicons par hybridation d'une sonde marquée par un fluorochrome est réalisée simultanément à l'amplification dans l'automate BD probe Tec^{ET}. Cette technique comporte un contrôle interne systématique.

II.4.2.2.4. Test d'amplification génique par la méthode de LCx® (Abott) (ligase chain reaction amplification) [6,165,166]

Ce test fait intervenir quatre sondes oligonucléotidiques qui reconnaissent une séquence cible de l'ADN des mycobactéries du complexe *tuberculosis*. Dans un premier temps, une DNA polymérase thermostable comble les espaces entre les amorces, ensuite une ligase réunit les fragments les uns aux autres.

II.4.2.2.5. NASBA (Nucleic Acid Sequence Based Amplification) [6]

Méthode voisine de la TMA, consiste à amplifier du RNA après transcription reverse en DNA.

II.4.2.2.6. Technique GenoQuick® MTB

Les différentes étapes du test sont [167]:

- l'extraction d'ADN, réalisée en 20 minutes à l'aide du kit GenoLyse.
- l'amplification (2 heures).

Le produit d'amplification fixé sur une bandelette (contenant des sondes complémentaires aux amplicons spécifiques de mycobactéries du complexe *tuberculosis*) est visualisé grâce à un marquage à l'or en 10 minutes.

II.4.2.2.7. Méthodes de détection du complexe *tuberculosis* et de la résistance à l'antibiotique à partir de l'échantillon direct [167]

Il existe actuellement plusieurs techniques commercialisées

II.4.2.2.7.1. Xpert® MTB/Rif

C'est une technique de PCR en temps réel

- Détection du complexe *tuberculosis*.

- Détection de la résistance à la rifampicine par l'identification des mutations les plus fréquentes. La cible est une région de 81 paires de bases du gène *rpoB*. Peut être réalisée à partir des échantillons positifs à l'examen direct, mais aussi des échantillons négatifs. Dans le premier cas la sensibilité est proche de 100 % dans le deuxième cas de 70 % seulement. Ces résultats ont été rapportés en 2010 par les 2 auteurs C.C. Boehme et D. Helb à travers 2 études différentes [168,169]. Par conséquent, ces résultats ont permis la validation de ce test [170,171]. Il s'agit d'une technique très facile à mettre en œuvre dans les laboratoires de routine et très rapide (résultats obtenus en 2 heures : temps nécessaire à la préparation de l'échantillon et à l'amplification). Le seul inconvénient est le coût du test est élevé.

II.4.2.2.7.2. GenoType MTBDR *plus*TM (Figure 27) et GenoType MTBDRTM *sl* [167,172]

- Détection du complexe *tuberculosis*.

- Détection de la résistance à la rifampicine, INH, fluoroquinolones, aminosides et éthambutol par la recherche des mutations les plus fréquentes. Peut être réalisée à partir des échantillons positifs à l'examen direct ou des cultures en milieu liquide ou solide.

Résultats obtenus en 5 heures (préparation de l'échantillon, amplification et hybridation). Les taux de détection de résistance à la rifampicine et à l'INH sont respectivement de 97 et 90 % à partir des échantillons cliniques.

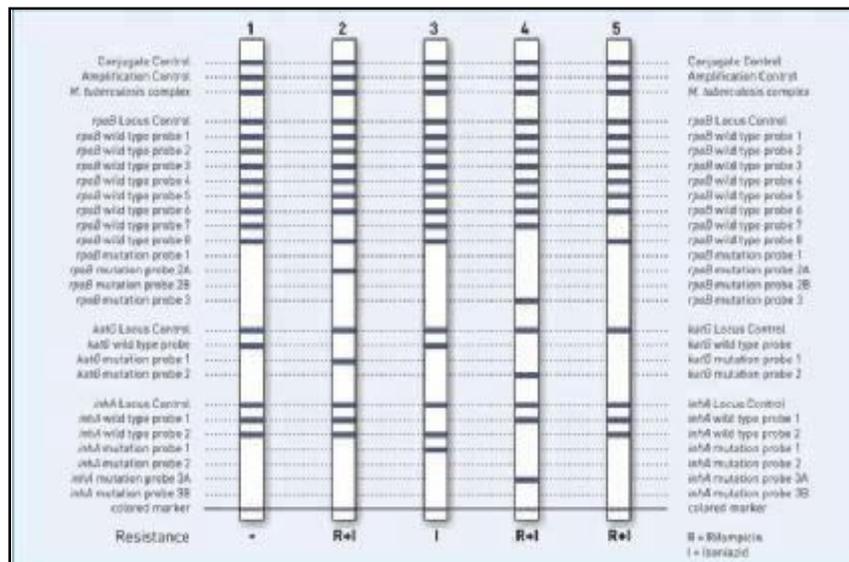


Figure 27 : MTBDR Plus (test unitaire de génotypage sur bandelettes) [145].

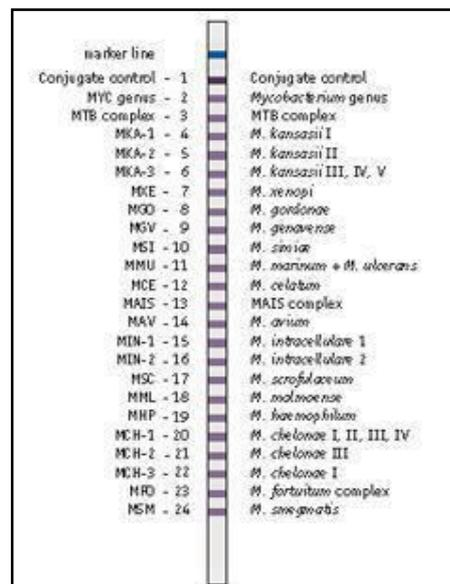
II.4.2.2.7.3. Technique Inno-Lipa™ Mycobacteria Innogenetics [172,173] (Figure 28)

Ce test d'hybridation inverse sur bandelettes de nitrocellulose nécessite une extraction et une amplification préalable. Les hybrides sont détectés à l'aide du système avidine-biotine, le substrat spécifique de la phosphatase alcaline permettant une détection chromogénique.

Les bandelettes Inno-Lipa® permettent la détection des mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* et de sept espèces de mycobactéries. Les sondes spécifiques de chacune de ces espèces, ainsi qu'une sonde spécifique du genre *Mycobactérium*, sont immobilisées sur chaque bandelette.

La cible est l'espace 16s-23s de l'ARN, et qui permet d'identifier 16 espèces [143].

Figure 28 : Exemple de bandelette d'Inno-Lipa™ Mycobacteria [161].



II.4.2.3. Autres techniques de biologie moléculaire permettant la détection du *Mycobacterium tuberculosis*

II.4.2.3.1. Typage des souches [54,143]

La technique RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) par digestion enzymatique (grâce à une endonucléase) de l'ADN chromosomique permet l'obtention de fragments de restriction dont le nombre et la taille sont fonction de la souche à étudier et de l'enzyme de restriction utilisé. Les fragments obtenus sont séparés par électrophorèse, puis hybridés à l'aide de sondes spécifiques. Cette analyse consiste à rechercher la séquence d'insertion répétée *IS 6110* spécifique du complexe *M. tuberculosis*, sachant que le nombre d'exemplaires et la localisation de cette séquence varient selon les souches [135]. C'est la méthode de référence pour le marquage épidémiologique de *Mycobacterium tuberculosis* [143].

II.4.2.3.2. Spoligotyping ou Spoligotyping (« spacer oligonucleotide typing ») [6,174]

Cette méthode permet à la fois d'identifier et de comparer les profils moléculaires des souches des mycobactéries du complexe *tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis* et *M. africanum*).

Il repose sur la détection (à partir d'une PCR) des séquences spacers polymorphes de la région DR (Direct Repeat). La région DR fait partie des séquences courtes répétées.

II.4.2.3.3. Puces à ADN pour le génotypage des mycobactéries [175-178]

Une puce à ADN appelée « DNA microarray » en anglais (« array » = rang ordonné), est constituée de fragments d'ADN immobilisés sur un support solide selon une disposition ordonnée (Figures 29). Une puce comporte quelques centaines à plusieurs dizaines de milliers d'unités d'hybridation appelées « spots » (de l'anglais « spot » = tache), chacune étant constituée d'un dépôt de fragments d'ADN ou d'oligonucléotides correspondant à des sondes de séquences données destinées à s'hybrider avec une séquence cible marquée par une fluorescence. Troesch et collaborateurs ont mis au point une puce à ADN à haute densité (GeneChip®) qui permet de typer génétiquement toutes les espèces de

mycobactéries .Elle a servi à l'identification de l'espèce, et de son profil de résistance à la rifampicine.

Parmi les séquences positionnées sur cette puce, 2 marqueurs sont représentés : un marqueur d'espèce (la région de l'ARN ribosomal 16S), et un marqueur de résistance à la rifampicine (la région du gène *rpoB*).

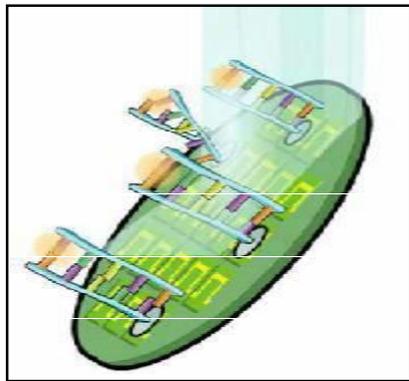


Figure 29a : Puce à ADN

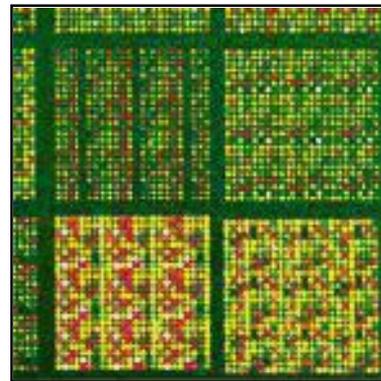


Figure 29b : Puce à ADN

Figures 29 : Pucés à ADN [178].

II.4.2.4 Techniques d'identification des espèces mycobactériennes en culture

- °des méthodes sans amplification utilisant des sondes nucléiques ;
- °des méthodes d'identification après amplification d'une portion définie du génome.

II.4.2.4.1. Sondes nucléiques [142,143]

Les épreuves biochimiques peuvent être remplacées par l'hybridation avec des sondes génomiques complémentaires de séquences d'ARN ribosomique, spécifiques de certaines mycobactéries, notamment de celles du complexe *tuberculosis*. Les sondes Accuprobe® (GenProbe®), couplées à un marqueur luminescent, l'ester d'acridinium, permettent d'identifier en moins de 2 heures les bacilles du complexe *tuberculosis* obtenus en culture pure sur milieu solide ou en milieu liquide. Leur sensibilité et leur spécificité, proches de 100 %, en font un outil fiable d'identification. Par ailleurs elles ne permettent pas de différencier les quatre espèces d'intérêt clinique du complexe *tuberculosis* : *M.tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum* et *M. microti*.

II.4.2.4.2. Méthodes d'identification des espèces mycobactériennes après amplification génique [142]

Ces méthodes font appel à une première étape d'amplification génique par PCR dont les cibles préférentielles sont les gènes codant soit pour l'ARNr 16S, soit pour la protéine de choc thermique de 65 kDa (Heat Shock Protein ou Hsp 65) ou encore pour la région séparant les gènes codant pour l'ARN 16S et l'ARNr 23S (appelée ITS pour Internal Transcribed Spacer). L'identification de l'espèce peut être effectuée à partir de plusieurs méthodes.

II.4.2.4.2.1. Séquençage automatique

Avec comparaison de la séquence d'acides nucléiques du fragment amplifié obtenue à celles déposées dans des banques de données informatisées.

II.4.2.4.2.2. Analyse des produits d'amplification par l'analyse du polymorphisme des fragments de restriction (*Restriction Fragment Length Polymorphism* ou *RFLP*)

Avec comparaison à des profils obtenus pour des souches d'espèces connues.

II.4.2.4.2.3 Inno-Lipa® et GenoType® MTBC

C'est l'hybridation des produits d'amplification sur une bandelette de nitrocellulose à la surface de laquelle ont été préalablement adsorbées des sondes spécifiques des différentes espèces mycobactériennes.

Les techniques Inno-Lipa® peuvent permettre la détection et l'identification de l'espèce ainsi que la recherche de la résistance à la rifampicine. La méthode GenoType® MTBC permet d'identifier les mycobactéries atypiques mais aussi de différencier les espèces au sein du complexe *tuberculosis*.

II.4.2.4.3. Technique d'immunochromatographie [167]

Permet l'identification du complexe *tuberculosis* à partir d'une culture en milieu liquide ou solide en 15 minutes. Technique basée sur la détection de la fraction protéique mycobactérienne MPT64 sécrétée pendant la culture.

II.4.3.Efficacité des techniques d'amplification génique [6,55]

En ce qui concerne l'analyse en routine des prélèvements destinés au diagnostic de la tuberculose, les techniques d'amplification génomique **sont moins sensibles** que la culture [144,147] (Figure 21). Pour qu'une technique d'amplification soit reproductible il faut que le prélèvement contienne de l'ordre de 20 à 40 CFU par millilitre.

Deux catégories bien distinctes doivent être différenciées. Les **prélèvements** multibacillaires **positifs** à l'examen **microscopique**, sur ces prélèvements la **sensibilité** des différentes techniques est de l'ordre de **90 à 100 %**. Pour les prélèvements **négatifs** à l'examen **microscopique** la **sensibilité** chute à **40-77 %** (en moyenne : **50 %**) [144,179].

Pour expliquer ce manque de sensibilité, on peut invoquer le **nombre trop faible** des **bacilles**, et la forte **résistance** de la **paroi** des mycobactéries qui empêche la lyse cellulaire et donc l'extraction de l'ADN.

En effet, pour limiter l'action des inhibiteurs, on limite le volume de l'inoculum. Alors que le flacon de culture reçoit 0,5 ml, le volume destiné à l'amplification est de 0,1 ml. Le produit est ensuite dilué par des réactifs tampons utilisés. Finalement, selon les méthodes, la dilution finale est de 20 à 50.

La présence d'**inhibiteurs** qui est maintenant bien décelée par le contrôle interne est à l'origine des réactions **faussement négatives**. Certaines méthodes de décontamination qui utilisent les tensioactifs comme le lauryl sulfate ou le chlorure de benzalkonium doivent être proscrites car ces produits sont très inhibiteurs des réactions d'amplification.

Par ailleurs, certains prélèvements (urines, pus, biopsies) contiennent souvent plus d'inhibiteurs que les crachats.

Concernant la spécificité, les cibles des différentes techniques sont bien choisies et il n'y a pas de réactions croisées avec les autres mycobactéries. Ce qui fait que la **spécificité** est excellente **supérieure à 95 %**. Par contre, les risques de contamination d'un échantillon par les produits d'amplifications précédentes pourraient être à l'origine de faux positifs. Divers moyens permettent d'éviter les contaminations (organisation du laboratoire, Ampérase, automation...).

Restent les **dissociations** : culture négative, amplification positive des malades traités où les bacilles sont morts mais leurs acides nucléiques persistent.

Au niveau du laboratoire, la réalisation des amplifications nécessite toujours d'encadrer la série à réaliser de témoins positifs et de témoins négatifs.

Application des méthodes de l'amplification géniques dans le diagnostic de la tuberculose cutanée et expériences rapportées concernant cette affection

Devant la difficulté du diagnostic microbiologique, des techniques d'amplification génique (*polymerase chain reaction* ou PCR) ont été appliquées directement sur le broyat de biopsies cutanées. Les résultats sont très variables selon les études [180-187]. Dans les formes multibacillaires, la PCR a plus de chance d'aboutir à un diagnostic d'espèce sans attendre la culture, en utilisant des amorces ou sondes spécifiques du complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Dans les formes paucibacillaires (lupus vulgaire par exemple) ou réactionnelles, ces techniques sont moins performantes avec des sensibilités de l'ordre de 50 %, et des valeurs prédictives positives d'autant plus faibles que l'on s'adresse à une forme clinique rare de la tuberculose [8]. Par contre, la biologie moléculaire appliquée directement aux cultures présente un intérêt plus évident. Il s'agit de techniques de PCR-hybridation permettant rapidement un diagnostic d'espèces et la détection de certains gènes de résistance aux deux antituberculeux majeurs que sont l'isoniazide et la rifampicine [138,142,167].

De nombreuses études ont été rapportées dans la littérature, décrivant des observations de tuberculose cutanée avec identification du *Mycobacterium tuberculosis* par la technique de PCR. Ces études ont intéressé les formes multibacillaires [188-190] et les formes paucibacillaires telles que le lupus vulgaire [105,191-195].

L'analyse de spécimens cutanés de 15 cas de lupus tuberculeux par un auteur german K. Degitz a pu détecter de l'ADN du *M. tuberculosis* par la méthode PCR dans 33 % [191].

Quant aux formes réactionnelles, des séries publiées ont montré des résultats variables. Une étude Sud Africaine menée par T. Victor et son équipe sur les tuberculides papulonécrotiques, a permis d'identifier de l'ADN mycobactérien dans 50 % au niveau de fragments cutanés [116,196]. K. Degitz et ses collaborateurs ont détecté le *Mycobacterium tuberculosis* par la technique de PCR chez 4 cas de tuberculides papulo-nécrotiques sur 6 (66 %) [197]. Par contre, l'équipe espagnole

d'E. Quirós a effectué la même étude chez 10 patients et a obtenu un taux de positivité de la PCR de 80 % [117].

La recherche de l'ADN du bacille tuberculeux a fait également l'objet d'analyse dans des séries d'érythème induré de Bazin. En ce sens, l'étude sud-africaine de J.W. Schneider a obtenu un taux de positivité de 25 % [113] et l'étude d'A. Yen du Texas a eu un taux de positivité de 31 % [114]. Ce taux a été plus élevé à 71 % dans l'étude germaine de K. Degitz [28,198,199] et à 77 % dans l'étude espagnole rapportée par E. Baselga [115].

D'autres observations d'association de lésions d'érythème induré de Bazin avec un lichen scrofulosorum [110], ou avec des tuberculides papulonécrotiques [107,200,201] apparues simultanément chez un même patient sont explorées par amplification génique avec des résultats positifs qui constituent, pour les auteurs, la preuve de l'origine tuberculeuse de ces lésions. En somme, ces études sont encore insuffisantes et parfois contradictoires et montrent bien le paradoxe du diagnostic de tuberculose paucibacillaire en l'absence de preuves microbiologiques.

Par ailleurs, de nombreuses études ayant pour but de démontrer l'utilité de la technique de PCR dans le diagnostic de la tuberculose cutanée sous toutes ses formes, ont été rapportées. Il faudrait souligner que ces études n'ont concerné que des petites séries. Elles ont obtenu un taux de positivité avec une sensibilité variant environ entre les 60-70 % [180-187].

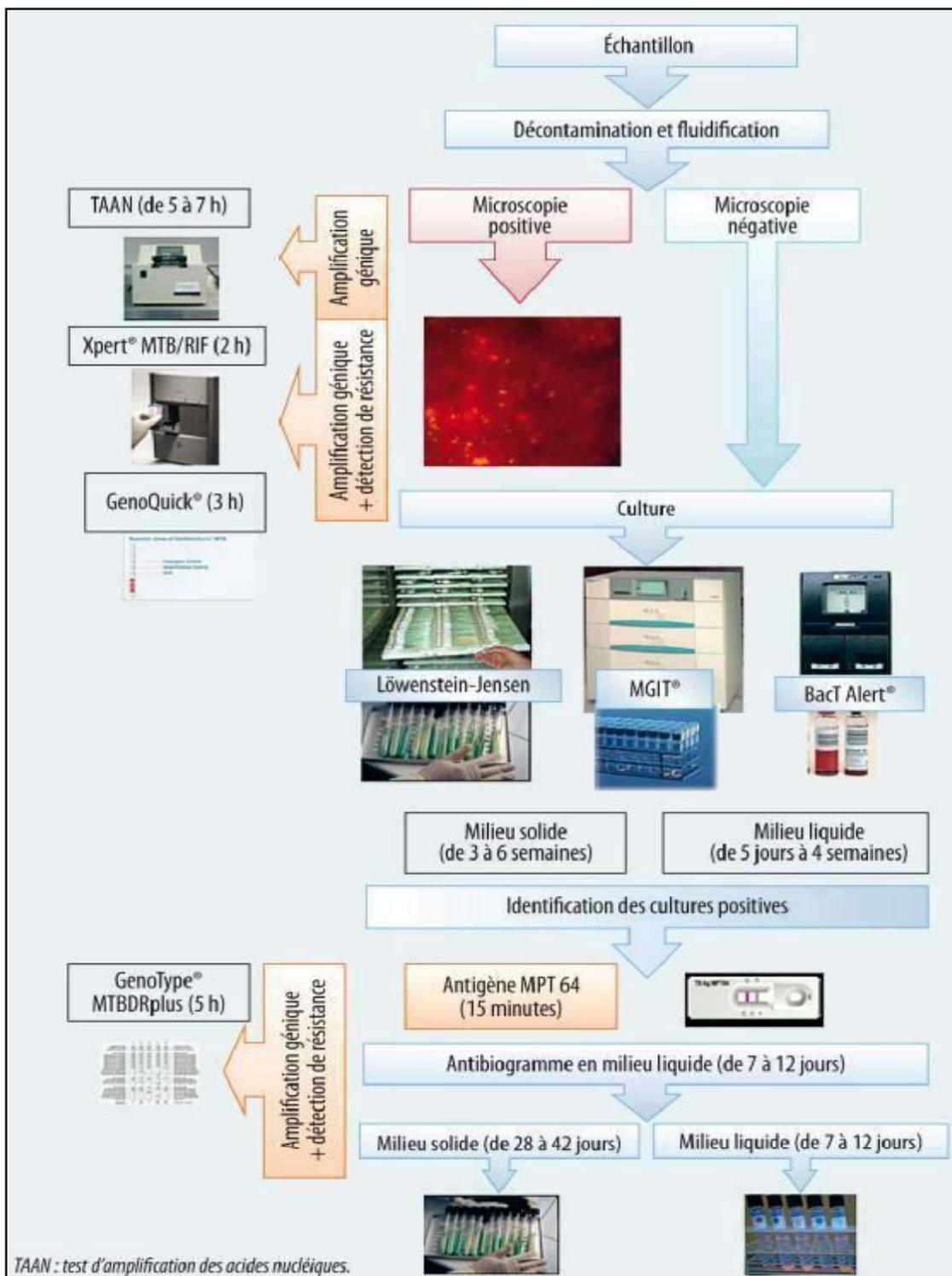


Figure 30 : Moyens de diagnostic des infections à *M. tuberculosis* (schéma récapitulatif).

CHAPITRE III :

TRAVAIL EXPERIMENTAL

III. TRAVAIL EXPERIMENTAL

III.1. PROBLEMATIQUE

Le diagnostic microbiologique de la tuberculose cutanée peut être facile dans les rares formes multibacillaires. Il est beaucoup plus difficile dans les formes paucibacillaires.

En plus, il reste encore long, du fait de la croissance lente des mycobactéries et de leur présence en petit nombre dans certains échantillons [8]. L'examen microscopique des échantillons après coloration de Ziehl-Neelsen est rapide et facile [9], mais un grand nombre de bactéries doit être présent pour donner un résultat positif (supérieur à 10^4 par millilitre) [147] (Figure 21). Ce n'est pas le cas de la tuberculose cutanée, d'autant plus que cette technique ne permet pas l'identification de l'espèce mycobactérienne [8]. La culture sur le milieu de Löwenstein-Jensen nécessite un délai de 3 à 10 semaines pour l'obtention d'un résultat positif, et reste habituellement négative dans la majorité des formes des tuberculoses paucibacillaires [7]. Par conséquent, ces limites créent de nombreux problèmes diagnostiques et thérapeutiques.

Il existe donc un besoin de méthodes rapides, spécifiques et sensibles permettant de diagnostiquer ces infections. La détection rapide et exacte du complexe *Mycobacterium tuberculosis* est essentielle pour le traitement précoce et la réduction de la transmission [9].

Plusieurs techniques ont été développées pour résoudre ces problèmes. Des équipes ont évalué la faisabilité d'un système basé sur l'amplification d'ADN mycobactérien par la méthode « polymerase chain reaction (PCR) », pour la détection rapide (en 24-48 heures) dans différents prélèvements (biopsies, tissulaires, tubage, crachats, sang, urines, moelle osseuse...) [202,203]. Ces travaux doivent répondre à deux questions du diagnostic biologique des infections à mycobactéries : l'identification de l'espèce (sachant que le genre *Mycobacterium* regroupe plus de 100 espèces de bactéries [9], dont une dizaine est pathogène) et la détermination de leur profil de résistance (permettant ainsi la mise en œuvre immédiate d'un traitement adapté).

III.2. METHODOLOGIE

III.2.1. Objectifs

Objectif principal:

Evaluer l'apport de la PCR dans l'amélioration du diagnostic de la tuberculose cutanée.

Objectifs secondaires:

- Comparer les différentes techniques de diagnostic de la tuberculose cutanée à savoir la culture (moyen diagnostique de référence), l'histologie et la PCR.
- Estimer les avantages diagnostiques, cliniques de la PCR.
- Faire un suivi thérapeutique selon le schéma adopté.

III.2.2. Limites et difficultés de l'étude

- recrutement difficile des malades, car il s'agit d'une dermatose infectieuse peu fréquente.
- retard de la réalisation de la technique de PCR en début de l'étude, par défaut d'approvisionnement en kits.
- la technique de biologie moléculaire pratiquée dans un laboratoire hors wilaya (éloignement).
- coût élevé des tests.

III.2.3. Protocole d'étude

III.2.3.1. Matériels et méthodes

***Type d'étude :** étude clinique prospective dans la captation des cas intéressant 46 malades, menée du mois de janvier 2010 au mois d'avril 2013.

***Lieu de l'étude :** service de Dermatologie du centre hospitalo-universitaire d'Oran. Par ailleurs, il faudrait souligner le fait que d'autres services ont contribué au recrutement des malades, tels que les services de Dermatologie du CHU de Tlemcen, du CHU Mustapha Pacha d'Alger et de l'EHU.

***Patients :** Il s'agit de patients présentant des lésions dermatologiques évoquant une tuberculose cutanée évolutive, dont le diagnostic est fortement suspecté devant la conjonction d'arguments cliniques, évolutifs et immunologiques (positivité de l'intradermoréaction à la tuberculine).

***Critères de sélection :**

a - Critères d'inclusion : population étudiée constituée de malades présentant une tuberculose cutanée fortement suspectée associée ou non à une localisation extra cutanée.

b - Critère de non inclusion: tout malade ayant reçu un traitement antituberculeux quelque soit sa durée et la localisation de l'affection tuberculeuse.

***Recueil des données :** il s'est fait selon une fiche avec un questionnaire (voir Annexe 1), constitué de 5 rubriques :

a- l'anamnèse,

b- l'examen clinique,

c- le diagnostic (avec précision de la forme clinique, association ou non avec une autre localisation tuberculeuse..),

d- les différentes techniques avec les résultats paracliniques :

1- l'intradermo-réaction à la tuberculine (mensuration),

2- le résultat histologique (et cytologique si présence de pus),

3- l'examen bactériologique direct (pratiqué chez 9 patients à l'institut Pasteur d'Alger ou au niveau d'un laboratoire libéral),

4- la culture,

5- la PCR,

6- le bilan de dissémination : radiologique, biologique.....

e- Le traitement (date de début, régime reçu...), paramètres de surveillance (la réponse et les effets secondaires au traitement ...)...etc.

III.2.3.2. Techniques de prélèvement et d'acheminement

***Des prélèvements cutanés ont été effectués chez ces malades avant l'instauration du traitement antituberculeux:**

- biopsies cutanées réalisées à la périphérie de la lésion avec prélèvement de 3 fragments (un pour l'examen anatomopathologique et les 2 autres pour les examens bactériologiques et la PCR).

- prélèvement de pus ou de sérosité par ponction à l'aide d'une seringue après désinfection de la peau (en cas d'abcès ou de gommés au stade de ramollissement) ou par écouvillonnage (en cas de lésion fistulisée).

Ces prélèvements ont été recueillis dans des flacons stériles à usage unique ne contenant ni additif ni conservateur ni fixateur, puis fermés

hermétiquement pour éviter les risques de contamination lors du transport. Les fragments biopsiques ont été immergés dans quelques millimètres d'eau physiologique stérile. Les prélèvements recueillis à l'aide d'écouvillons ont été humidifiés avec quelques gouttes d'eau distillée stérile (pour éviter la dessiccation), avant de boucher hermétiquement le flacon dans lesquels ils ont été transportés.

***L'acheminement des prélèvements vers les laboratoires :**

Pour l'examen histologique, le prélèvement cutané transporté dans du liquide de Bouin ou du formol, a été analysé soit au niveau du service d'anatomie pathologique du CHUO ou de l'EHU, soit chez un anatomopathologiste libéral selon les moyens du malade.

Pour les examens bactériologiques, les échantillons ont été acheminés vers le laboratoire dans une glacière soit immédiatement après leur prélèvement, soit après leur conservation dans un réfrigérateur à une température de +4°C (pour préserver la viabilité des bacilles tuberculeux et limiter la multiplication des éventuels micro-organismes contaminants) pendant un délai ne dépassant pas les 72 heures, dans les cas où l'analyse a été différée (prélèvement provenant d'une autre wilaya).

III.2.3.3. Différents laboratoires où ont été effectuées les analyses bactériologiques et la technique de PCR

Durant les 6 premiers mois de la période de recrutement, les échantillons prélevés chez les premiers malades ont été adressés au laboratoire de référence central de la tuberculose de l'institut Pasteur d'Alger, pour la pratique des examens bactériologiques de routine et de la PCR. Malheureusement la collaboration de ce laboratoire a été interrompue, à cause d'un manque de moyens pour la pratique de la PCR (retard d'approvisionnement en kits).

Pour surmonter cet obstacle, les prélèvements pratiqués chez le reste des malades ont été transportés en deuxième lieu vers le laboratoire de référence régional de la tuberculose de l'institut Pasteur d'Oran où la technique de décontamination-fluidification (mise en suspension) (voir Annexe 2) et la mise en culture ont été réalisées (voir Annexe 3). L'examen direct ne se pratique pas au niveau de ce laboratoire pour les tuberculoses extra-pulmonaires car jugé inutile et très peu sensible.

Par la suite, la suspension de broyat tissulaire et du pus décontaminée a été acheminée dans une glacière, vers un laboratoire libéral (dont le propriétaire est le Dr Cherif Touil médecin biologiste) situé à Sig (wilaya de Mascara), pour la pratique de la PCR.

III.2.3.4. Technique de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

A pu être utilisé le test Xpert® MTB/RIF du laboratoire Cepheid.

Il consiste en une analyse par amplification en temps réel, et détection par balise moléculaire la présence de mycobactéries du complexe *tuberculosis* et sa résistance ou sa sensibilité à la rifampicine à partir d'échantillons cliniques [171]. La PCR en temps réel utilise le principe de base de la PCR classique (amplification cyclique d'un fragment d'ADN après transcription inverse), basée sur une réaction enzymologique, avec pour différence une amplification mesurée non pas en final mais tout au long de la réaction [204-206].

Cette technique combine amplification et détection simultanée des produits amplifiés, donc elle se déroule en une seule étape. Par contre, au cours de la PCR "classique" les étapes d'amplification et d'analyse des produits amplifiés sont séparées [206].

A chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN est mesurée grâce à un marqueur fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits durant la réaction [204-206].

Les résultats obtenus en 2 heures (temps nécessaire pour la préparation de l'échantillon et pour l'amplification) [205,207].

Le test Xpert® MTB/RIF permet de détecter le *M. tuberculosis*, ainsi que les mutations conférant la résistance à la rifampicine, à l'aide de trois amorces spécifiques et de **cinq sondes moléculaires** uniques garantissant un haut degré de spécificité, et une **sonde témoin** de la réaction. La résistance à la rifampicine est mise en évidence par la présence de mutations au niveau du génome du *M. tuberculosis*. La cible est une région de 81 paires de bases du gène *rpoB* [207].

Il s'agit d'une technique très facile, mais qui demande un appareillage particulier et le coût du test est élevé. Pour un système de 4 modules, la capacité journalière est normalement de 15-20 tests [205].

Il comporte un automate (système GeneXpert) composé d'un nombre variable de modules, un ordinateur personnel, un lecteur de codes-barres (scanner) (Figure 31), un logiciel préinstallé pour effectuer des tests sur des échantillons prélevés et utilise des cartouches à usage unique renfermant les réactifs lyophilisés, les tampons et les solutions de rinçage (Tableau XI). La détection et la caractérisation de la cible se font en temps réel, à l'aide d'un dispositif laser à six couleurs [207].



Figure 31 : Instruments nécessaires pour la technique GeneXpert [171].

III.2.3.4.1. Réactifs et matériels

a-Le Kit MTB/RIF contient des réactifs pour traiter 10 échantillons.

Le kit comprend les éléments suivants (Figure 32) :

- 1- Une quantité de 10 cartouches (Figure 33). Chaque cartouche renferme des billes et des réactifs (Figure 34) (Tableau XII).
- 2- 10 flacons contenant 8 ml de réactif pour l'échantillon (hydroxyde de sodium et isopropanol) (Figures 32 et 33).
- 3- 12 pipettes de transfert jetables stériles.
- 4- 1 CD programmé avec :
 - Fichier de définition du test (ADF)
 - Instructions pour importer dans le logiciel GX.



Figure 32 : Composition du kit Xpert® MTB/RIF [171].

Tableau XII. Différents produits contenus dans la cartouche (Figure 34)

Produits	Quantité par cartouche
Billes de réactif 1 (lyophilisées) : <ul style="list-style-type: none"> - Amorces - Sondes - Kcl - Mgcl2 - HEPES (acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique), ph 8,0 (tampon) - SAB (sérum-albumine bovine) 	2
Billes de réactifs 2 (lyophilisées) : <ul style="list-style-type: none"> - Taq polymerase - Kcl - Mgcl2 - dNTPs - HEPES, ph 7,2 (tampon) - SAB (sérum-albumine bovine) 	2
Billes de réactifs 3 (lyophilisées)	1
Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE ou "SPC" en anglais) : spores non infectieuses témoins de préparation d'échantillons	2000
Réactif 1 (tampon Tris, EDTA surfactants)	4 ml
Réactif 2 (tampon Tris, EDTA surfactants)	4 ml
Balles de rétention	-

Abréviations : d NTPs : 4désoxyribonucléotides, Kcl : chlorure de potassium, Mgcl2 : chlorure de magnésium.

b- autres matériels et instruments nécessaires

- pipettes de transfert stériles.
- flacons stériles pour le recueil des échantillons.
- des gants jetables.
- étiquettes ou marqueurs indélébiles.
- une imprimante.



Figure 33 : Cartouche (à droite) et flacon d'hydroxyde de sodium et isopropanol pour le traitement de l'échantillon (à gauche) (Collection du Dr Chiali).

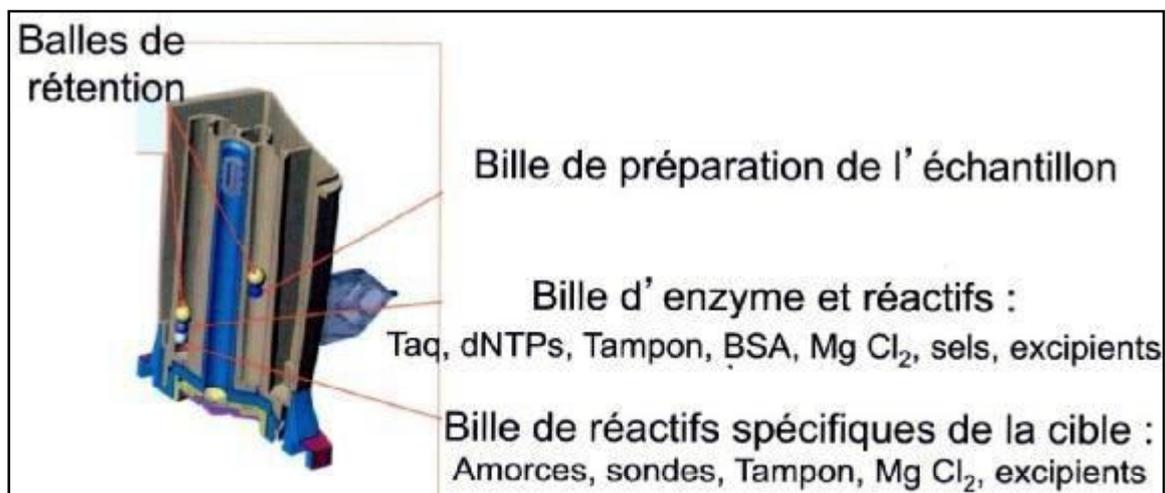


Figure 34 : Coupe transversale de la cartouche [171].

III.2.3.4.2. Présentation de la cartouche GeneXpert [171,208]

Elle comporte (Figures 35 et 36) :

- 11 chambres réactionnelles possédant une porte. Le transfert du liquide de l'une vers l'autre se fait grâce à un système de vanne.
- Au centre de la partie supérieure se trouve l'emplacement du piston de la seringue (Figure 37).
- Au niveau de la région postérieure est situé le tube PCR (Figures 36 et 38).
- Au niveau de la partie inférieure se trouve le corps de la valve.



Figure 35 : Coupe horizontale de la cartouche [171].

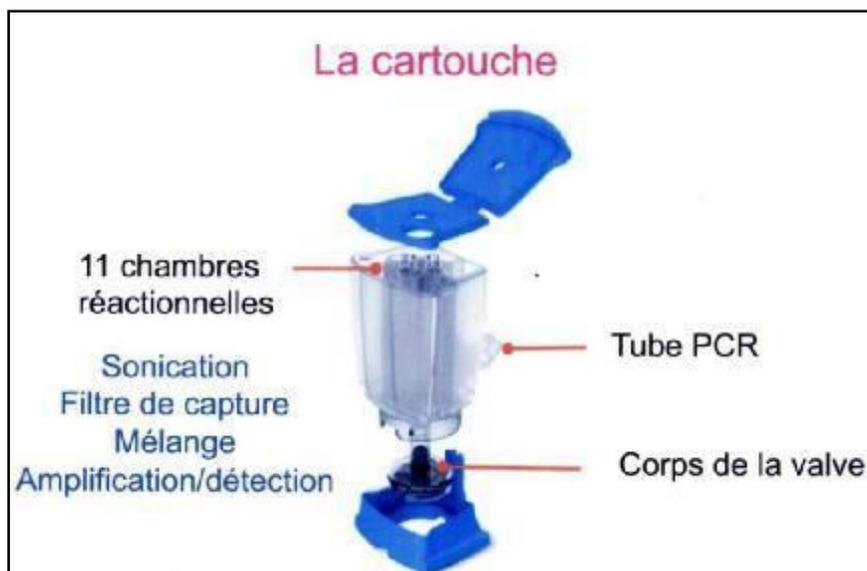


Figure 36 : Configuration de la cartouche conforme au déroulement de toutes les étapes de la PCR [171].

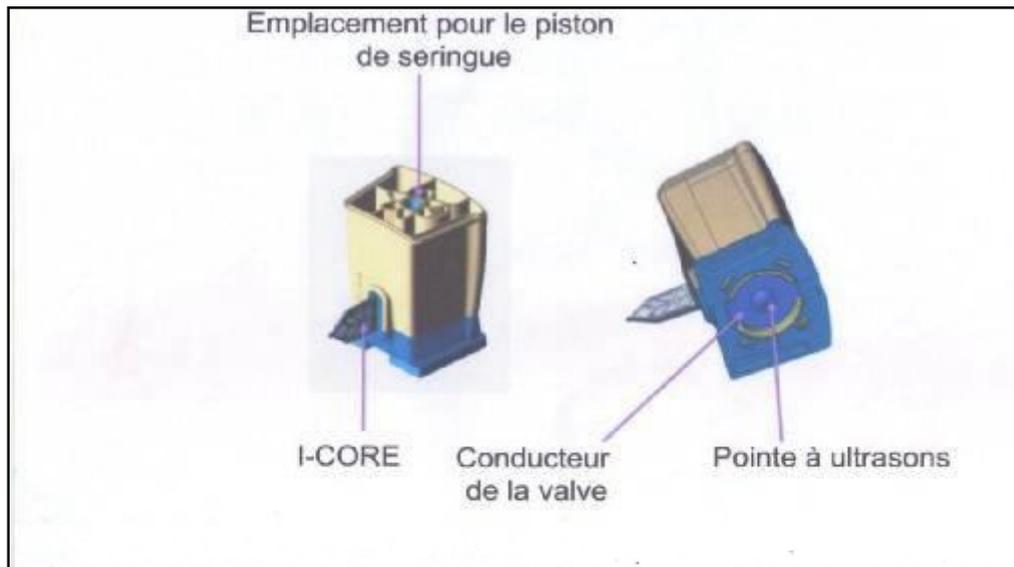
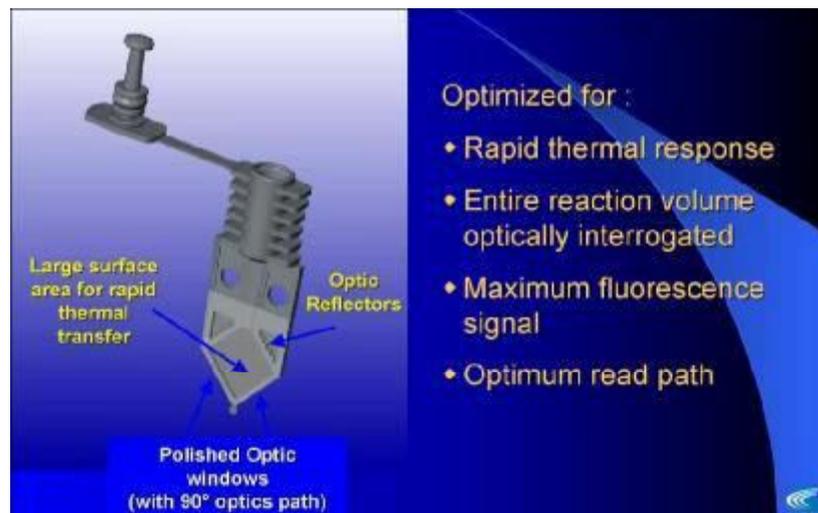


Figure 37: Cartouche et instruments situés en interface [171].



Figures 38 : Tube PCR [208].

III.2.3.4.3. Module GeneXpert [142,208] :

C'est un thermocycleur (appelé Light cycler) doté d'un appareil de chauffage et d'un ventilateur (Figure 39) et contenant en plus un système optique pour la détection de la fluorescence générée lors des réactions de PCR en temps réel.

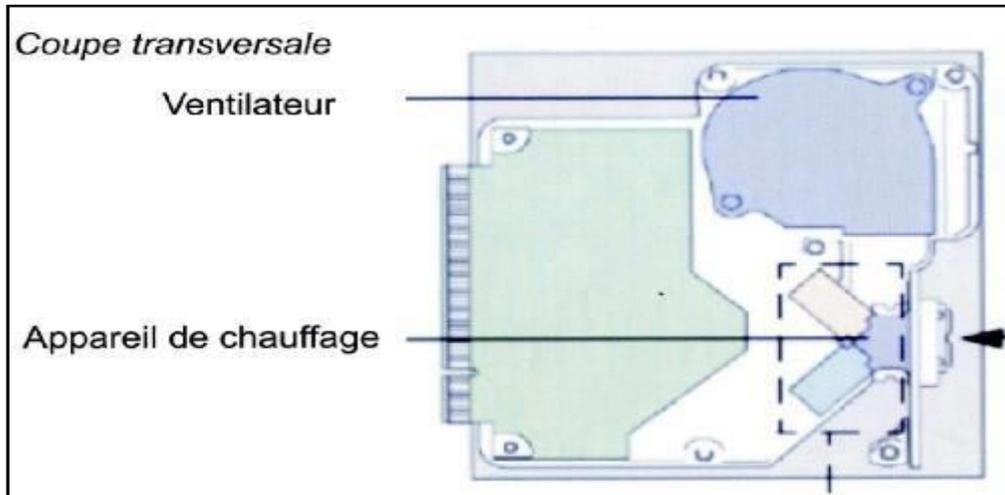


Figure 39 : Au niveau du module, la région du I-core est dotée d'un appareil de chauffage et d'un ventilateur [171].

On y trouve de haut vers le bas (Figure 40) :

- À la partie supérieure le moteur de la seringue.
- La carte mère.
- Le I-core qui correspond à la zone d'insertion du tube PCR.
- La porte du module.
- A la partie inférieure le moteur de la valve conductrice et la pointe à ultrasons.

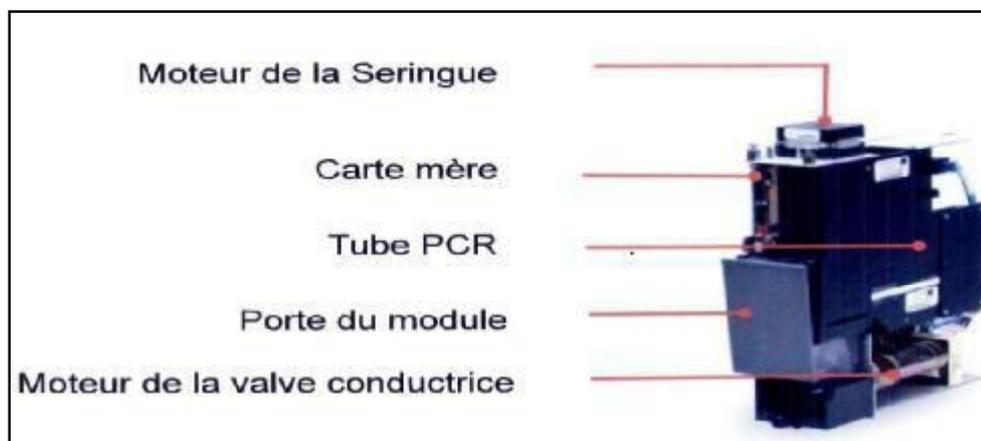


Figure 40: Module Gene Xpert [171].

III.2.3.4.4. Performances [171]

Le système Gene-Xpert® automatise les 3 processus nécessaires pour le test génétique basé sur la PCR en temps réel : la préparation de l'échantillon, l'amplification des acides nucléiques et la détection des séquences cibles [205].

1-Au niveau du corps de la valve se déroulent (Figure 41):

- la sonication (grâce aux ultrasons émis par la pointe à ultrasons) ce qui permet la lyse des mycobactéries.
- la filtration (par le filtre de capture) et la concentration.

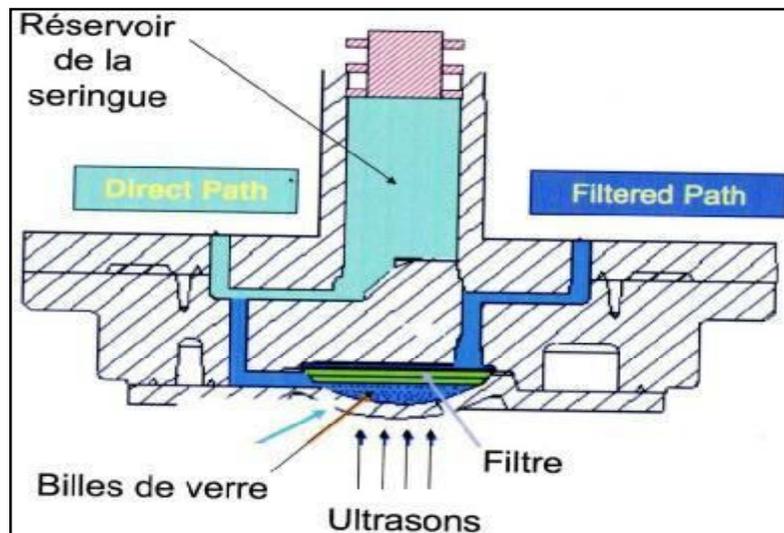


Figure 41 : Système du corps de la valve [171].

2-L'amplification et la détection se font au niveau de la région du tube PCR.

3- Le contrôle de qualité

a-Contrôle du traitement de l'échantillon «CTE» ou «SPC» en anglais :

- Effectué par des spores témoins de préparation de l'échantillon non infectieuses placées dans chaque cartouche sous la forme d'un biscuit sec.
- Vérifie la lyse et le traitement de l'échantillon.
- Détecte l'inhibition.

b-Contrôle de la sonde

Avant de démarrer la réaction PCR, le GeneXpert Dx System mesure :

- Le signal de fluorescence à partir des sondes pour contrôler la réhydratation des billes de réactifs.
- Le remplissage des tubes de réaction.
- L'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome.

Le contrôle de la sonde réussi s'il répond aux critères d'acceptation attribués.

c- Au cours des tests d'amplification génique en temps réel, le risque de contamination croisée entre les échantillons est extrêmement réduit car les cartouches sont indépendantes (jetables et à usage unique), d'autant plus que l'ouverture du tube en post-PCR n'est pas nécessaire [206].

III.2.3.4.5. Manipulation de l'échantillon [170,171]

***Les conditions à respecter :**

- le volume doit être supérieur à 1 millilitre (ml).
- la durée de conservation des échantillons inférieure à 10 jours à une température de 4°C, ou inférieure à 3 jours à une température variant de 4 à 28°C.
- le réactif ou le " Sample Reagent" : isopropanol associé à la soude pour la décontamination.

***La procédure (Figure 42) :**

- sous hotte verser 2 volumes de réactif (hydroxyde de sodium et isopropanol) pour un volume d'échantillon (crachat direct ou une partie du sédiment d'un échantillon concentré) ou 1,5 ml pour 500 µl de culot décontaminé (par la méthode de Kubica).
- agiter le mélange.
- laisser reposer 10 minutes (mn) à température ambiante.
- agiter de nouveau.
- laisser reposer 5 mn.
- sur la paillasse, pendant les 5 mn d'attente, déballer la cartouche en faisant attention à la partie PCR.
- marquer le nom sur le côté de la cartouche et ouvrir son couvercle.
- prélever à l'aide de la pipette 2 ml d'échantillon liquéfié ou 2 ml de culot décontaminé avec le réactif.
- déposer les 2ml dans la chambre de la cartouche (la troisième chambre) (Figure 43).
- lecture du code-barres de la cartouche à l'aide d'un scanner (Figure 44).
- poser la cartouche dans le module dont le voyant vert clignote et fermer la porte (Figure 45).
- le test démarre et le voyant vert cesse de clignoter.
- la durée du test : 1 heure et 52 mn.
- le voyant s'éteint quand le test est terminé

***Avertissements et précautions [209] :**

- les performances du test Xpert® MTB/RIF n'ont pas été évaluées avec des échantillons traités par des méthodes autres que la méthode de Kubica.
- ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert® MTB/RIF, sauf pour ajouter un échantillon.
- ne pas utiliser une cartouche qui est tombée ou qui a été agitée après avoir ajouté l'échantillon traité.
- ne pas utiliser une cartouche si elle semble humide ou si son couvercle semble avoir été descellé.
- ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- chaque cartouche Xpert® MTB/RIF à usage unique doit être utilisée pour effectuer un seul test. Ne réutilisez pas des cartouches usagées.



Figure 42 : Préparation de l'échantillon pour la PCR Xpert® MTB/RIF [209].



Figure 43 : Déposer 2 ml de culot décontaminé avec le réactif prélevé à l'aide d'une pipette dans la chambre de la cartouche (la troisième chambre).



Figure 44 : Lecture du code-barres de la cartouche à l'aide d'un scanner.

Modus opératoire : La cartouche contient tous les réactifs nécessaires – il vous suffit d'ajouter l'échantillon

<p>1</p> <p>Verser le "Sample Reagent" dans le tube de l'échantillon Incubez 15 minutes à température ambiante. (Les produits biologiques peuvent être : un crachat direct ou une partie du sédiment d'un échantillon concentré).</p> 	<p>2</p> <p>Transférez l'échantillon dans la cartouche à l'aide la pipette</p> 	<p>3</p> <p>Insérez la cartouche et commencez le test</p> 
<p>TEMPS DE MANIPULATION = 2 MINUTES</p>		

Figure 45 : Traitement de l'échantillon (1) sera suivi par son dépôt dans la cartouche (2). Cette dernière sera introduite à l'intérieur du module de GeneXpert pour le test (3) [209].

III.2.3.4.6. Principe

Ce système est fondé sur l'utilisation de fluorophores (ou fluorochromes) des balises moléculaires [210], basée sur la détection d'une éventuelle amplification se faisant, cycle après cycle, par le suivi d'une courbe de fluorescence spécifique émise

par les produits d'amplification [142].

Ceci permet d'obtenir une cinétique de la réaction et donc la quantification de l'ADN au fur et à mesure [211, 212].

Les balises moléculaires (molecular beacon) sont des sondes à oligonucléotides en forme d'épingle à cheveux à un seul brin, conçues pour indiquer la présence d'acides nucléiques spécifiques.

Une balise moléculaire est constituée d'une boucle qui est complémentaire à la séquence cible d'ADN et d'une tige qui se présente sous forme d'un tronc formé de deux bras avec des séquences complémentaires.

Un fluorophore ou émetteur fluorescent (reporter) est fixé à l'extrémité d'un des 2 bras (extrémité 5') et un suppresseur (quencher) [4-(4'-diméthylamino-phenylazo)-benzène] au niveau de l'extrémité de l'autre bras (extrémité 3'). Le suppresseur ou extincteur est un chromophore non-fluorescent qui dissipe en chaleur l'énergie du fluorochrome émetteur.

Lorsque la balise en forme d'épingle à cheveux n'est pas liée à une cible, le tronc maintient les bras l'un à proximité de l'autre, le fluorophore et l'extincteur sont proches l'un de l'autre et la fluorescence est supprimée. En la présence d'une séquence de nucléotide cible complémentaire, la tige de la balise s'ouvre pour s'hybrider à la cible. Cela sépare le fluorophore et l'extincteur et entraîne la fluorescence du fluorophore (la fluorescence n'est plus inhibée et peut être détectée) [208,209].

Lors de l'excitation, le fluorophore absorbe l'énergie lumineuse d'une longueur d'onde spécifique et réémet la lumière à une longueur d'onde plus longue. Les longueurs d'onde sont exprimées en nanomètres [210].

L'émission de la fluorescence est détectée grâce des blocs optiques (Figure 46) [171,210].

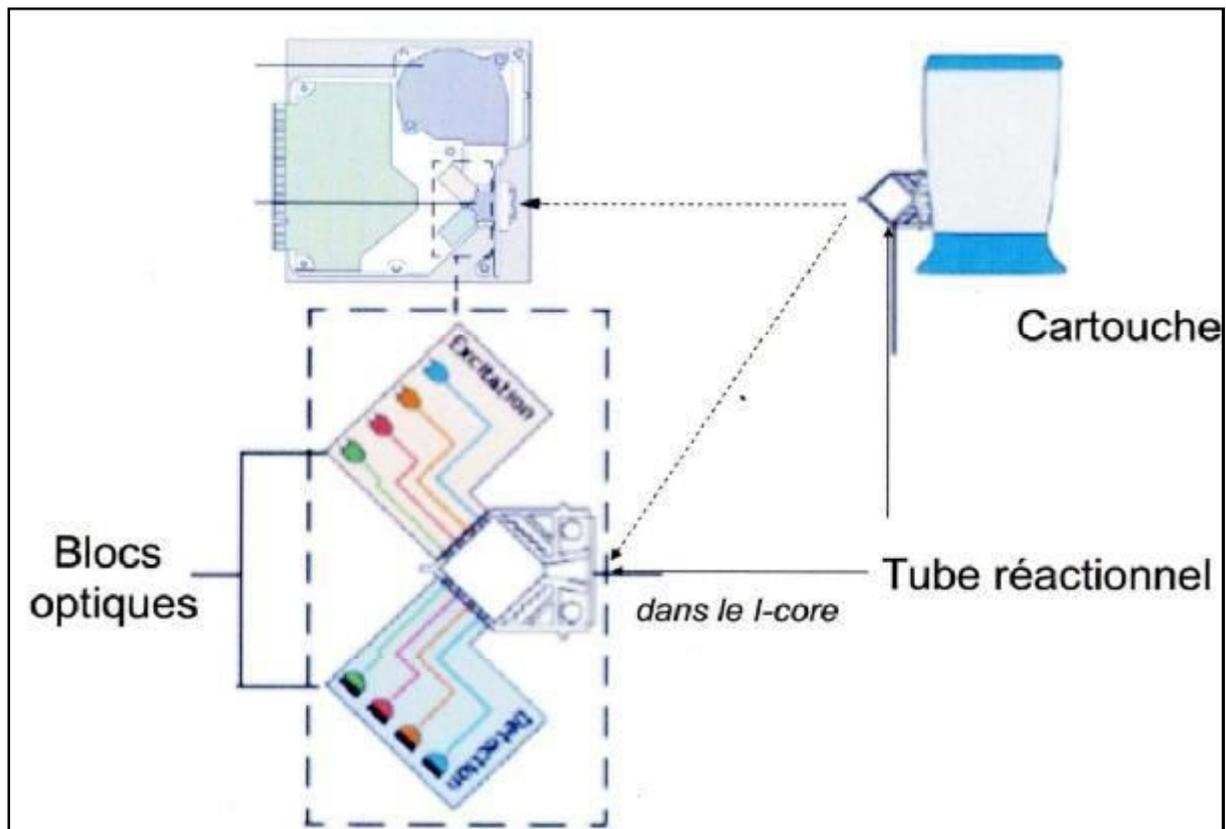


Figure 46: Détection de l'émission de fluorescence se fait grâce à des blocs optiques [171].

Procédure de l'amplification par la méthode "Molecular beacon" au cours du test Gene-Xpert [171,210,211] (Figure 47)

Durant l'étape de la dénaturation à une température de 94°C, la balise moléculaire est sous forme relaxée et libre en solution mais la proximité suffisante du suppresseur qui inhibe partiellement la fluorescence du fluorochrome.

Lors de l'hybridation à une température de 55°C, l'amorce et la sonde vont s'hybrider sur leurs séquences cibles et l'éloignement du suppresseur permet l'émission de fluorescence du fluorochrome (la lecture de la fluorescence se fait au moment de l'hybridation). Ensuite à l'étape de polymérisation, la polymérase déplace la sonde qui retourne en solution en prenant la forme en épingle à cheveux à l'état libre et en restant intacte.

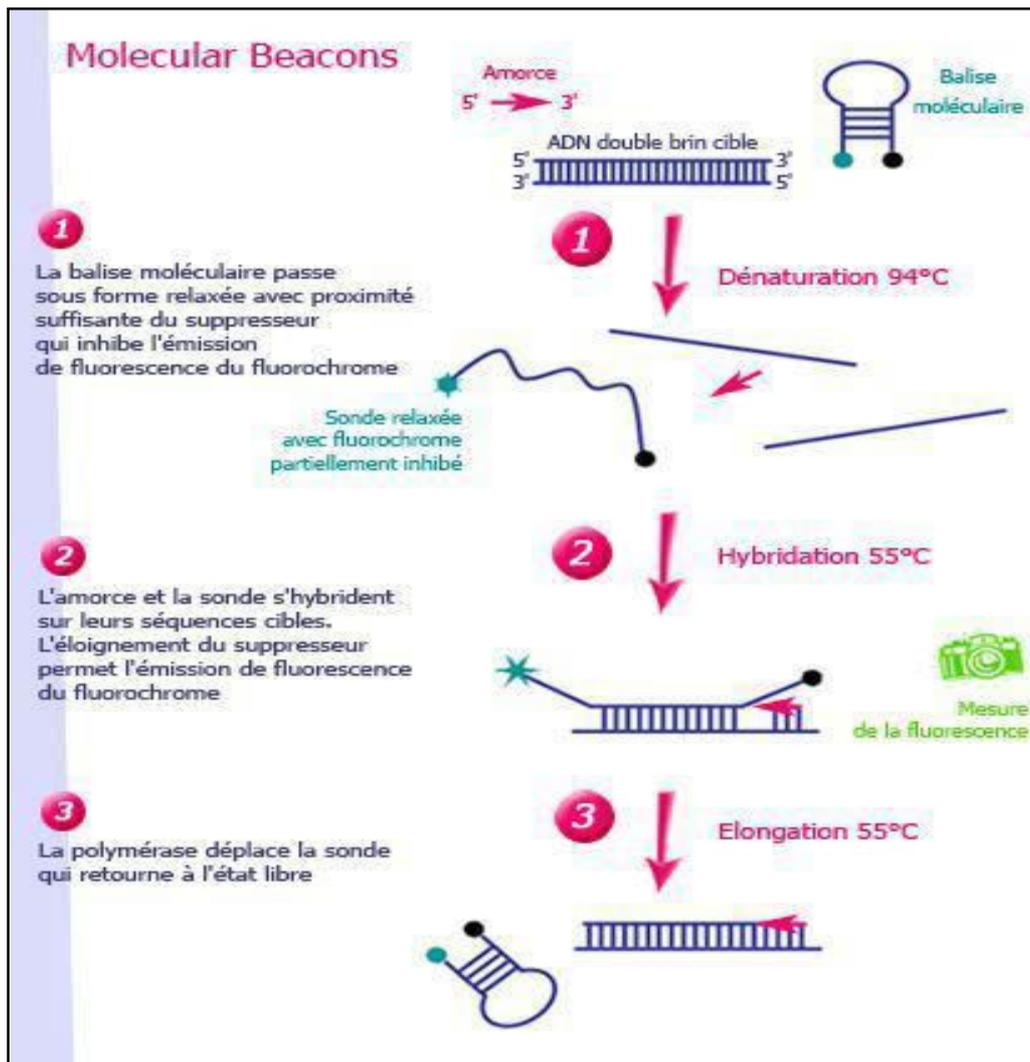


Figure 47 : Procédé de l'amplification génique par la méthode "Molecular beacon" (balise moléculaire) [171,210].

III.2.3.4.7. Interprétation des résultats [208,210]

Les résultats sont interprétés par GeneXpert DX System à partir des signaux fluorescents mesurés et d'algorithmes de calculs intégrés.

6 fluorochromes détectés simultanément selon le nombre de sondes (5 sondes spécifiques et une sonde témoin) (Figure 48):

- le CF1.
- le FAM (caboxyfluorescéine).
- l'Alexa Fluor® 532.
- le Texas Red®.
- l'Alexa Fluor® 647.
- le CF6.

Canal optique	Excitation (nm)	Emission (nm)	Couleurs
1	375-405	420-480	CF 1
2	450-495	510-535	FAM
3	500-550	565-590	Alexa Fluor® 532
4	555-590	606-650	Texas Red®
5	630-650	665-685	Alexa Fluor 647®
6	630-650	>700	CF 6

Figure 48: Différents fluorochromes détectés [171].

Mesure du cycle seuil

Pour déterminer la positivité d'une PCR et/ou quantifier un échantillon par PCR en temps réel, on détermine le nombre de cycles à partir duquel le produit PCR est détectable. Le moment d'apparition de ce signal seuil dénommé cycle seuil ou Ct (Cycle threshold) est dépendant de la quantité de matrice initialement présente dans l'échantillon amplifié. Le Ct calculé est inversement proportionnel au logarithme décimal du nombre de copies initiales. Il apparaît toujours au cours de la phase exponentielle de la PCR.

Le résultat d'une PCR en temps réel est représenté graphiquement sous forme de courbes sigmoïdes affichées sur la fenêtre "Afficher les résultats" (Figure 49).

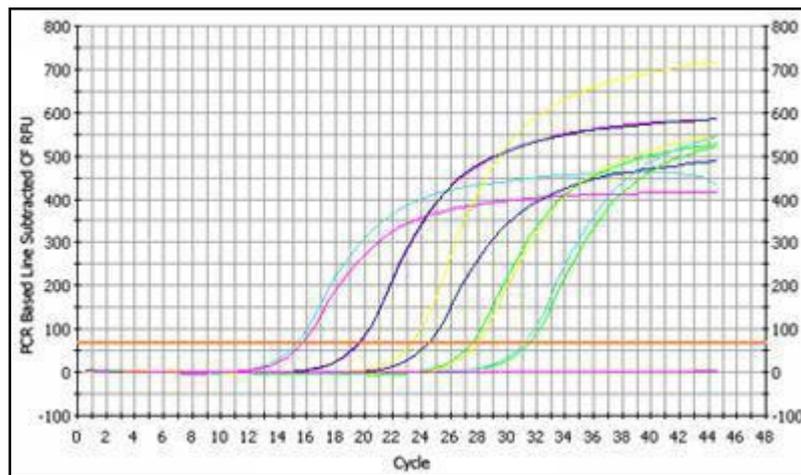


Figure 49 : Courbes sigmoïdes témoignant des résultats de la PCR en temps réel [211].

Chaque courbe correspond à un échantillon (ou à une séquence). Elle représente la mesure de la fluorescence de cet échantillon pour chaque cycle. Le signal seuil calculé automatiquement est matérialisé sur le graphe par une ligne horizontale.

Résultat semi-quantitatif : correspondant à la quantification du nombre de bacilles tuberculeux s'il est important ou faible [171,210] :

- Elevé : inférieur à 16Ct (nombre de cycles),
- Moyen : compris entre 16 et 22 Ct,
- Bas : compris entre 22 et 28Ct,
- Très bas : supérieur à 28Ct.

Affichages des résultats (commentaires des courbes obtenues) [210]:

- **MTB DETECTED (MTB détecté)** : l'ADN de la cible MTB est détecté.
 - MTB DETECTED (MTB détecté) : le résultat MTB affiche High (élevé), Medium (moyen) (Figure 50b), Low (faible) (Figure 50a) ou Very Low (très faible) selon la valeur Ct de la cible MTB présente dans l'échantillon.
 - Rif Resistance DETECTED (résistance à la rifampicine détectée) (Figure 50a), Rif Resistance NOT DETECTED (résistance à la rifampicine non détectée) (Figure 50b) ou Rif Resistance INDETERMINATE (résistance à la rifampicine indéterminée) s'affichent uniquement pour les résultats de type MTB DETECTED (MTB détecté), sur une ligne séparée.

La résistance à la rifampicine correspond à une mutation du gène *rpoB*. La résistance à la rifampicine indéterminée est expliquée par une concentration en MTB très faible et la résistance n'a pas pu être déterminée.

- Rif Resistance NOT DETECTED (résistance à la rifampicine non détectée) correspond à l'absence de mutation du gène *rpoB* décelée.

• **MTB NOT DETECTED (MTB non détecté)**: l'ADN de la cible MTB n'est pas détecté, le CTE répond aux critères d'acceptation (Figures 50b, 50c).

* Certains problèmes peuvent entraver le fonctionnement du système GeneXpert et le rendu des résultats : ce qui justifie la nécessité de répéter le test à l'aide d'une nouvelle cartouche avec le recours à d'autres procédures.

Un résultat "invalid" (résultat non validé): indique que le contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) a échoué secondairement à un traitement incorrect de celui-ci ou à la présence d'un inhibiteur de la PCR (sang, aliments..).

Un résultat "Error" (erreur) : indique l'échec du contrôle de la sonde et l'interruption du test (limites maximales de pression dépassées à cause d'un volume incorrect ou d'une viscosité excessive) ou d'une défaillance du module GeneXpert.

Un résultat "MTB NO RESULT" (pas de résultat) : du à un échec secondaire à une coupure du courant électrique, un défaut de ventilation à l'arrière de l'automate ou à l'interruption volontaire du test en cours.



Figure 50a

Figure 50a: la notion de détection du *M. tuberculosis* en quantité faible et de la résistance à la rifampicine mentionnée au niveau de la fenêtre d'affichage.

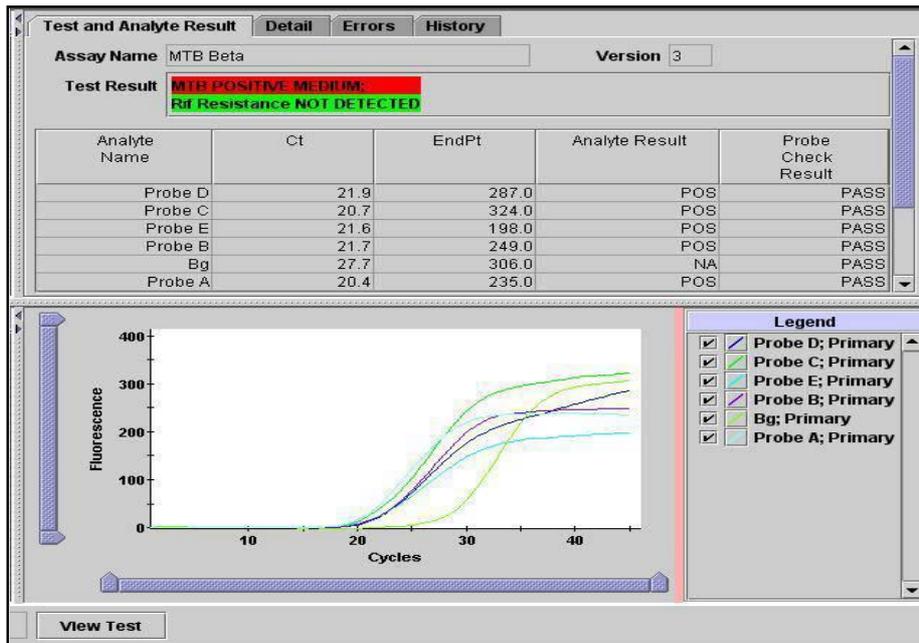


Figure 50b

Figure 50b: la notion de détection du *M. tuberculosis* en quantité moyenne et de non détection de la résistance à la rifampicine mentionnée au niveau de la fenêtre d’affichage.

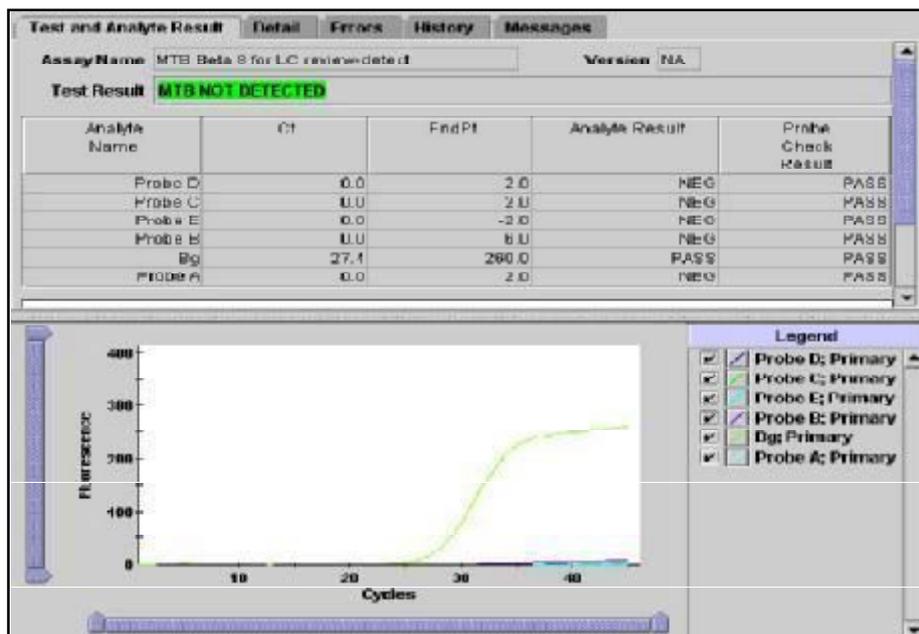


Figure 50c

Figure 50c: la notion d’absence de détection du *M. tuberculosis* mentionnée au niveau de la fenêtre d’affichage.

Figures 50: Affichage des résultats du test Xpert® MTB/RIF [51].

La résistance à la rifampicine [171] (Figure 51):

- ✓ Repose sur la détection des 81 paires de bases (pb) du gène *rpoB* (la sous unité bêta de l'ARN polymérase) et d'une éventuelle mutation nucléotidique ou plusieurs régions de gène.
- ✓ Les séquences qui déterminent 81 pb du gène *rpoB* sont :
- ✓ Probe A: GCACCAGCCAGCTGA (5'-3').
- ✓ Probe B: CTCGGTTAAGTACCTGGTCT (3'-5').
- ✓ Probe C: CTCGGTTAAGTACCTGGTCT (3'-5').
- ✓ Probe D: GGGGTTGACCCACAAGCG (5'-3').
- ✓ Probe E: CGGCTGACAGCCGCGAC (3'-5').

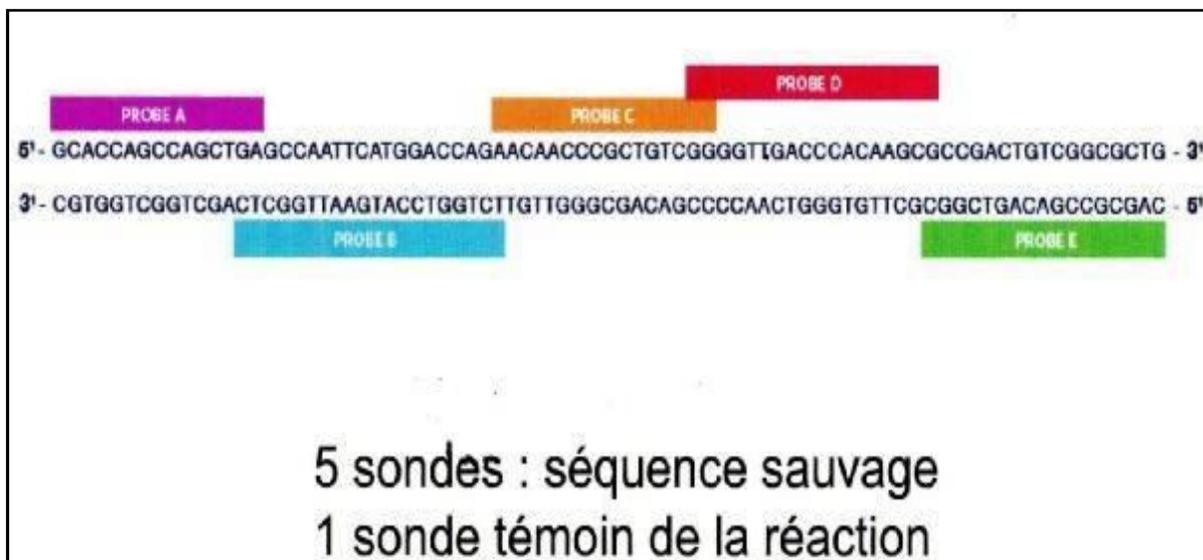


Figure 51: Séquences qui déterminent la résistance à la rifampicine. 81 pb du gène *rpoB* région déterminant la résistance à la rifampicine [171].

III.3. ETUDE ANALYTIQUE

III.3.1. Recrutement des malades

46 malades ont été recrutés présentant des signes en faveur d'une tuberculose cutanée fortement suspectée associée ou non à une localisation extra cutanée.

Pour chaque malade ont été précisés l'âge, le sexe, la présence ou l'absence de cicatrice du BCG, la notion de contagio tuberculeux, le délai d'évolution de la maladie, l'existence ou l'absence des signes d'imprégnation, la forme clinique, la présence ou non d'un autre foyer tuberculeux, la présence ou non d'adénopathies, les résultats de l'intradermo-réaction à la tuberculine (IDRT), de l'histopathologie (et de la cytologie en cas de présence de pus), de la bactériologie, de la PCR, et de la sérologie HIV, le protocole du traitement antituberculeux et la réponse thérapeutique.

Les formes cliniques : sont variées et réparties selon la classification qui distingue les formes multibacillaires des formes paucibacillaires (selon la charge bactérienne) (Tableau V) (Figure 61).

***Les formes multibacillaires :**

- scrofulodermes : 19 cas.
- gommes : 5 cas.
- tuberculose ulcéreuse orificielle : 1 cas.

***Les formes pauci-bacillaires :**

- lupus tuberculeux : 10 cas.
- tuberculose verruqueuse : 6 cas.
- érythème induré de Bazin : 3 cas.
- tuberculides : 1 cas.
- érythème noueux : 1 cas.

III.3.2. Sur le plan paraclinique

- 1- L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDRT) avec la mensuration.

L'interprétation de l'IDRT :

L'IDRT est jugée positive quand la papule d'induration est égale ou supérieure à 10 mm (chez des adultes ou chez des enfants non vaccinés par le BCG) ou à 15 mm chez les enfants porteurs d'une cicatrice vaccinale du BCG [124].

- 2- les résultats histologiques (et cytologiques si présence de pus) ont été répartis en 3 groupes :

- l'aspect spécifique : comporte le granulome tuberculoïde avec nécrose caséuse ou la nécrose caséuse seule (cytologie du pus).
- l'aspect compatible : où est retrouvé le granulome épithélio-gigantocellulaire sans nécrose caséuse évidente.
- l'aspect non compatible ou non concluant : fait d'un infiltrat non granulomateux avec absence de nécrose caséuse.

Pour faciliter l'évaluation des tests statistiques, ces aspects ont été séparés en 2 groupes :

- l'aspect concluant qui réunit les 2 formes histologiques spécifique et compatible c'est-à-dire la présence du granulome tuberculoïde avec ou sans nécrose caséuse.
 - l'aspect non concluant ou non compatible : fait d'un infiltrat inflammatoire non granulomateux.
- 3- la recherche bactériologique directe (pratiquée chez 9 patients à l'institut Pasteur d'Alger ou au niveau de laboratoires libéraux).
 - 4- la culture.
 - 5- la PCR.
 - 6- le bilan de dissémination : radiologique, biologique.....

III.3.3. Iconographie et présentation de malades

Sur les 46 malades nous présentons une iconographie ne concernant que 25 cas avec le résultat de la PCR de certains d'entre eux. Nous n'avons pas trouvé nécessaire de les présenter tous à cause, de la ressemblance de certains d'entre eux. En plus, il existe des malades suivis dans d'autres wilayas. De ce fait, nous avons procédé à l'analyse de leur fragment cutané (parvenu par une tierce personne), ainsi qu'au recueil des renseignements cliniques à partir de rapport médical ou auprès de leur médecin traitant.



Photo cas n°1 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photo cas n°1 : Erythème induré de Bazin chez une patiente âgée de 61 ans



Photo cas n°2 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photo cas n°2 : Erythème induré de Bazin.

Réalise un tableau de poussées successives de nodules inflammatoire érythémato-violacés avec une desquamation en collerette par endroit et une sensation de jambe lourdes chez une patiente de 28 ans. L'IDRT est fortement positive avec une induration mesurant 18 mm de diamètre.



Photo cas n°3 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photo cas n°3 : Erythème noueux tuberculeux chez une patiente de 37 ans.



Photo cas n°4 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photo cas n°4 : Tuberculose verruqueuse chez un boucher.

2 lésions verruqueuses au niveau de la main droite (face dorsale de la main et de l'index) chez un malade de 29 ans.



Photo 1 cas n°5 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°5 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°5 : Tuberculose verruqueuse chez un agriculteur.

Lésion verruqueuse et squamo-croûteuse érodée par endroit entourée d'une aréole rouge touchant l'index gauche chez un sujet âgé de 52 ans (photos 1 et 2 du cas n°5).



Photo 1 cas n°6 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°6 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 3 cas n°6 (Iconographie du DR A. Chiali)

Photos cas n°6 : Tuberculose verruqueuse de la main gauche chez un boucher de 22 ans (Photo 1 du cas n°6). Evolution favorable sous l'effet du traitement antituberculeux (photos 2 et 3 du cas n°6).



Photo cas n°7 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photo cas n°7 : Tuberculose verruqueuse du médius droit.



Photo 1 cas n°8 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°8 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°8 : Lésions de scrofuloderme à double localisation latéro-cervicale et axillaire. Plusieurs lésions gommeuses au stade d'ulcération, de siège latéro-cervical et axillaire droits chez un sujet de 68 ans (photos 1 et 2 cas n°8).



Photo cas n°9 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photo cas n°9 : Scrofuloderme à proximité de l'aréole mammaire par contiguïté à une mastite tuberculeuse chez une patiente de 66 ans. Les BK ont été mis en évidence par la culture du pus et du fragment biopsique sur le milieu de Löwenstein-Jensen. La PCR s'est révélée négative.



Photo cas n°10 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photo cas n°10 : Scrofuloderme en voie de cicatrisation.

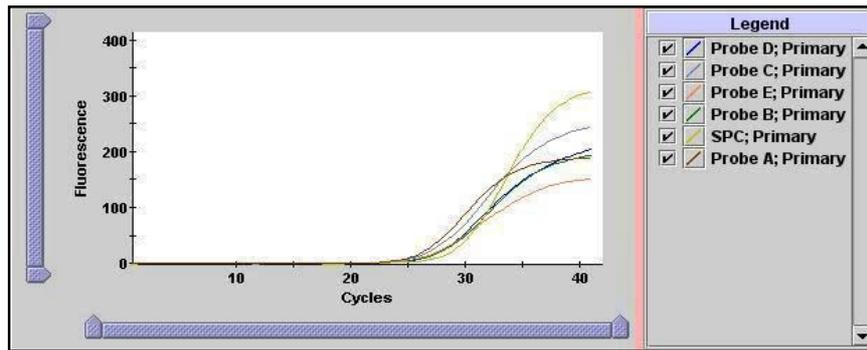
Aspect de cicatrice chéloïdienne avec persistance de quelques pertuis, siégeant au niveau de la cuisse droite à proximité de la région inguinale chez un enfant âgé de 10 ans.



Photo cas n°11 (Iconographie du Dr A. Chiali , CHU d'Oran)

Photo cas n°11 : Scrofuloderme associé à un mal de Pott lombaire siégeant au dessus du quadrant supéro-externe de la fesse gauche et survenant chez un patient de 34 ans.

Lésion gommeuse unique en regard de la face postérieure de la crête iliaque gauche, fistulisée très adhérente au plan profond. On note un écoulement d'un liquide purulent par l'orifice fistuleux. Le bacille tuberculeux détecté à la culture et à la PCR.



Résultat de la PCR du cas n°11: aspect positif, *Mycobacterium tuberculosis* détecté en quantité faible par la méthode GeneXpert. La résistance à la rifampicine n'a pas été détectée.



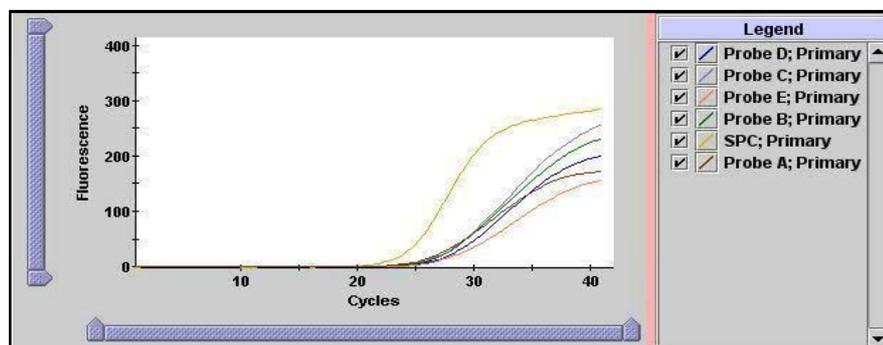
Photo 1 cas n°12 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°12 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°12 : Scrofuloderme à double localisation cervicale et axillaire.

2 lésions à évolution gommeuse axillaire et basi-cervicale antérieure au stade d'ulcération chez un patient de 31 ans (Photos 1 et 2 du cas n°12). La culture et la PCR sont revenues positives.



Résultat de la PCR du cas n°12 : positif, *Mycobacterium tuberculosis* détecté en quantité faible. La résistance à la rifampicine n'a pas été détectée.



Photo 1 cas n°13 (Iconographie du Dr A. Chiali , service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°13 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°13 : Scrofuloderme à double localisation sus claviculaire et au niveau de la région du coude.

2 lésions gommeuses au stade d'ulcération (sus claviculaire gauche et au niveau de la région latéro-interne du coude gauche) chez un patient de 31 ans (Photos 1 et 2 du cas n°13).

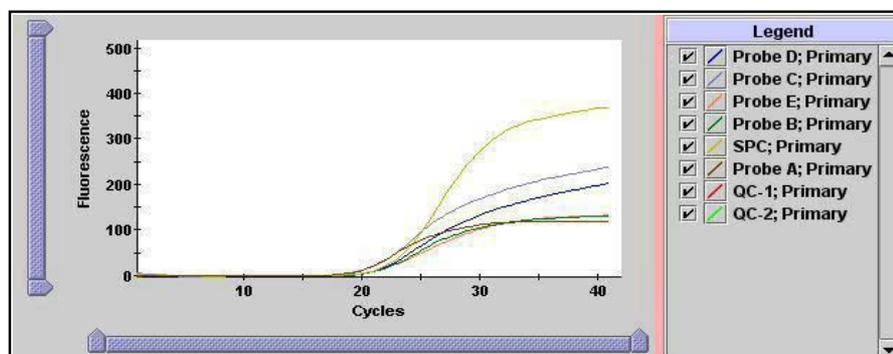


Photo 1 cas n°14 (Iconographie du Dr A. Chiali , service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°14 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°14 : Scrofuloderme latéro-cervical gauche au stade de fistulisation contigu à une adénite tuberculeuse (Photos 1 et 2 du cas n°14).



Résultat de la PCR du cas n°14 : aspect positif, le bacille tuberculeux détecté en faible quantité. La résistance à la rifampicine non détectée.



Photo 1 cas n°15 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°15 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



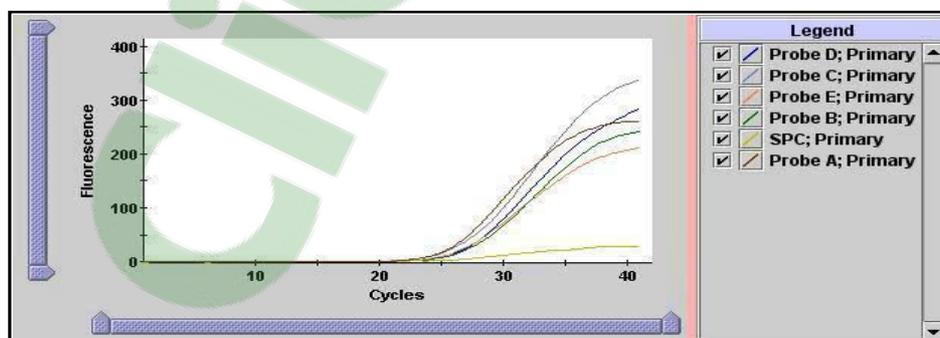
Photo 3 cas n°15 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 4 cas n°15 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°15 : Scrofulodermes latéro-cervicaux gauches.

2 lésions gommeuses à différent stade évolutif (ramollissement et ulcération) (photos 1 et 2 du cas n°15). Réponse favorable aux antituberculeux (2RHZ/4RH) (photos 3 et 4 du cas n°15).



Résultat de la PCR du cas n°15 : positif, le *Mycobacterium tuberculosis* détecté en faible quantité. La résistance à la rifampicine n'a pas été détectée.



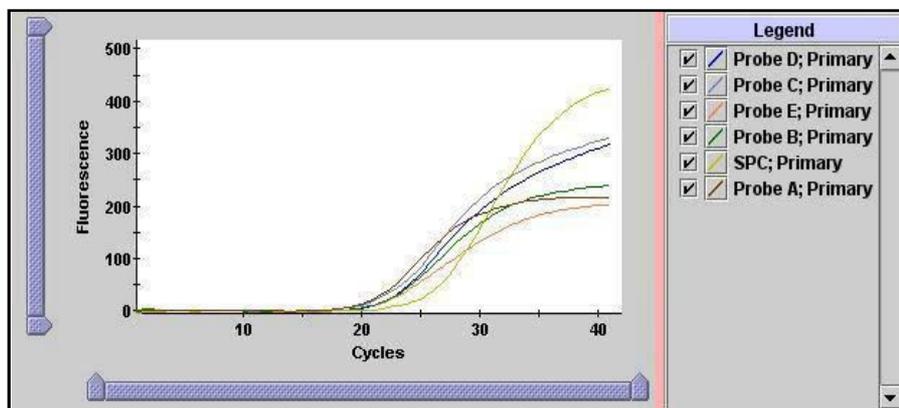
Photo 1 cas n°16 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°16 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°16 : Gommès au niveau de la fesse gauche.

Patiente âgée de 54 ans présente des lésions gommeuses au stade de fistulisation au niveau et au dessus du quadrant supéro-externe de la fesse gauche avec des lésions cicatricielles rétractiles au niveau axillaire gauche. Ces lésions sont unilatérales (photo 1 et 2 du cas n°16). La culture sur le milieu de Löwenstein Jensen du fragment cutané et du pus revenue positive.



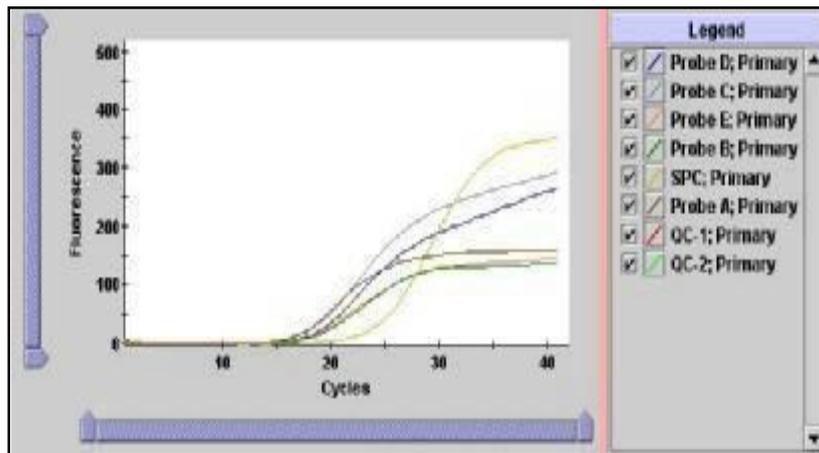
Résultat de la PCR du cas n°16 : positif avec détection du bacille tuberculeux en quantité moyenne. La résistance à la rifampicine n'a pas été détectée.



Photo cas n°17 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photo cas n°17 : Gomme au stade de ramollissement au niveau de l'avant bras droit chez un sujet sidéen.

Patient sidéen âgé de 37 ans se présente pour un abcès au centre ramolli de l'avant bras droit associée à d'autres localisations tuberculeuses (pulmonaire et péritonéale). La culture sur le milieu de Löwenstein-Jensen du fragment cutané et du pus revenue positive.



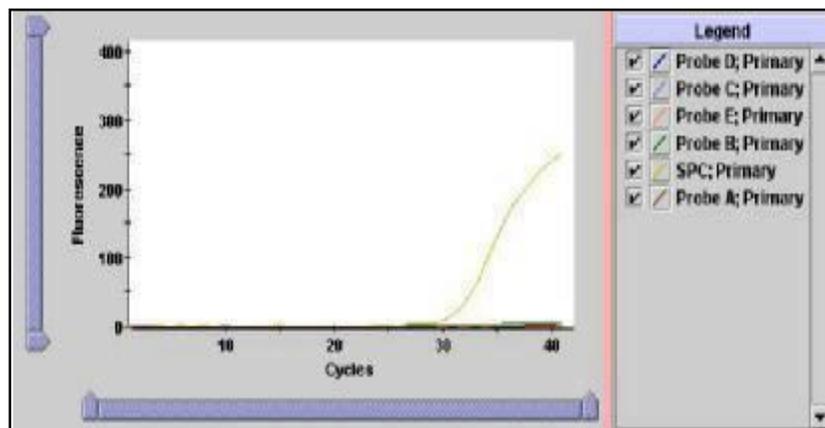
Résultat de la PCR du cas n° 17: aspect positif avec détection du bacille tuberculeux en quantité moyenne. La résistance à la rifampicine n'a pas été détectée.



Photo cas n°18 (Iconographie du Dr A. Chiali)

Photo cas n°18 : Tuberculides papulo-nodulaires de la face.

Le diagnostic a été posé devant la positivité de l'intradermo-réaction à la tuberculine avec une mensuration de 15 mm de diamètre et une histologie retrouvant un granulome tuberculoïde (mais sans nécrose caséeuse) chez un patient de 37 ans.



Résultat de la PCR du cas n°18 : négatif (à titre d'exemple) avec absence de détection du bacille tuberculeux (toutes les courbes sont aplaties sauf la courbe témoin).



Photo 1 cas n°19 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 3 cas n°19 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°19 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 4 cas n°19 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°19 : Lupus tuberculeux du visage.

Lupus tuberculeux du visage chez une patiente de 36 ans avec mutilation au niveau du nez avant (photos 1 et 2 du cas n°19) et après réponse favorable au traitement antituberculeux (photos 3 et 4 du cas n°19).



Photo 1 cas n°20 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°20 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°20 : Lupus tuberculeux au niveau du tronc.

Plaque érythémateuse desquamative et croûteuse légèrement infiltrée siégeant à proximité du flanc droit chez un sujet de 35 ans (photos 1 et 2 du cas n°20). Le diagnostic est posé devant l'évolution chronique de la lésion dépassant un an), la positivité de l'IDRT et la présence de granulome tuberculoïde (mais sans nécrose caséuse) à l'histologie.



Photo 1 cas n°21 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie du CHU d'Oran)



Photo 5 cas n°21 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie du CHU d'Oran)



Photo 6 cas n°21 (Iconographie du Dr A. Chiali)



Photo 2 cas n°21 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie du CHU d'Oran)



Photo 7 cas n°21 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie du CHU d'Oran)



Photo 3 cas n°21 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie du CHU d'Oran)



Photo 4 cas n°21 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie du CHU d'Oran)



Photo 8 cas n°21 (Iconographie du Dr A. Chiali)

Photos cas n°21 : Lupus tuberculeux à localisations multiples (visage, pavillon des oreilles et avants bras). Aspect des lésions avant (photos 1, 2, 3 et 4 du cas n°21) et 3 mois après le début du traitement (photos 5, 6, 7 et 8 du cas n°21) chez une femme de 60 ans.



Photo 1 cas n°22 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie du CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°22 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie du CHU d'Oran)

Photos cas n°22 : Lupus tuberculeux au niveau de la joue droite chez une patiente de 60 ans. Aspect avant (photo 1 du cas n°22) et après le traitement (photo 2 du cas n°22).



Photos 1 cas n°23 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)



Photo 2 cas n°23 (Iconographie du Dr A. Chiali, service de dermatologie CHU d'Oran)

Photos cas n°23 : Lupus tuberculeux au niveau de la joue droite et à proximité de la pointe du nez chez une patiente âgée de 28 ans. Aspect des lésions avant (Photo 1 du cas n°23) et après le traitement (Photo 2 du cas n°23).



Photo 1 cas n°24 (Iconographie du Dr A. Dib-Lachachi et du Pr O. Boudghène stambouli, service de dermatologie CHU de Tlemcen)



Photo 2 cas n°24 (Iconographie du Dr A. Dib-Lachachi et du Pr O. Boudghène stambouli, service de dermatologie CHU de Tlemcen)



Photo 3 cas n°24 (Iconographie du Dr A. Dib-Lachachi et du Pr O. Boudghène stambouli, service de dermatologie CHU de Tlemcen)



Photo 4 cas n°24 (Iconographie du Dr A. Dib-Lachachi et du Pr O. Boudghène stambouli, service de dermatologie CHU de Tlemcen)

Photos cas n°24 : Lupus tuberculeux à localisations multiples (nez, région scapulaire droite et la fesse gauche) chez une femme de 23 ans (photos 1, 3 et 4 du cas n°24). La vitropression de la lésion du nez retrouve l'infiltrat jaunâtre lupoïde en "gelée de pomme"(photo 2 du cas n°24) .

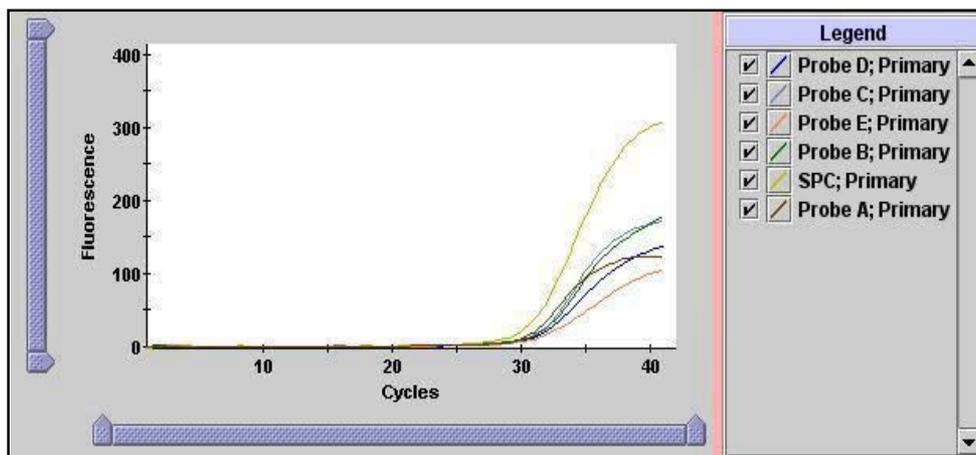


Photo cas n°25 (Iconographie du Dr I. Mahi et du Pr O. Boudghène stambouli, CHUTlemcen)

Photo cas n°25 : Tuberculose verruqueuse.

Plaque papillomateuse parsemée d'érosions et de croûtes, purulente par endroit. Elle siège au niveau de la face postéro-externe du 1/3 inférieur la jambe droite (Photo cas n°25).

Le diagnostic est posé devant la positivité de l'IDRT avec mensuration de 15 mm de diamètre, la présence de granulome tuberculoïde (mais sans nécrose caséuse) à l'histologie, l'aspect positif de la culture sur le milieu de Löwenstein Jensen qui a montré des colonies du *Mycobacterium tuberculosis* au 28^{ème} jour et la positivité de la PCR.



Résultat de la PCR du cas n°25: aspect positif avec détection du bacille tuberculeux en très faible quantité. Absence de détection de résistance à la rifampicine.

III.3.4. Techniques d'exploitation des données

La saisie et l'analyse des données ont été effectuées sur le logiciel Epi Data 3.1. La sensibilité et la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative de la technique PCR ont été calculées en prenant la culture et l'histologie comme examens de référence.

Les tests statistiques utilisés : le Khi deux et le test exact de Fisher. Le risque d'erreur a été fixé à 5 % (intervalle de confiance (IC) à 95 %).

La **sensibilité** d'un test est la probabilité que le test soit positif si la personne testée est atteinte de la maladie. C'est le nombre de vrais positifs (tests positifs chez des personnes atteintes de la maladie) divisé par le nombre total de personnes atteintes de la maladie. Plus un test est sensible, moins il comporte de faux négatifs.

La **spécificité** d'un test est la probabilité que le test soit négatif si la personne testée est indemne de la maladie. C'est le nombre de vrais négatifs (tests négatifs chez des personnes indemnes de la maladie) divisé par le nombre total de personnes saines. Plus un test est spécifique, moins il occasionne de faux positifs et mieux il permet, s'il est positif d'affirmer la maladie.

La **valeur prédictive positive (VPP)** d'un test est la probabilité que la personne soit réellement malade si son test est positif. C'est le nombre de vrais positifs divisé par le nombre total de personnes dont le test est positif.

La **valeur prédictive négative (VPN)** d'un test est la probabilité que la personne n'ait pas la maladie si son test est négatif. C'est le nombre de vrais négatifs divisé par le nombre total de personnes dont le test est négatif.

Un test **Khi carré** ou **Khi-deux (χ^2)** d'association supérieur ou égal à 3,84 correspond à une liaison statistiquement significative entre la maladie et le signe et il y a moins de 5 chances sur 100 (que la distribution résulte de hasard, c'est-à-dire alpha (ou la probabilité(p) pour χ^2) est égal ou inférieur à 0,05 pour un nombre de degré de liberté (ddl) égal à 1.

Plus la valeur du (p) est petite, plus il est incontestable que les variables sont liées.

Selon la table du χ^2 avec degré de liberté (ddl) = 1:

$\chi^2 \geq 3.841$, la probabilité alpha (ou degré de signification p) ≤ 0.05 ;

$\chi^2 \geq 5.412$, la probabilité alpha (ou degré de signification p) ≤ 0.02 ;

$\chi^2 \geq 6.635$, la probabilité alpha (ou degré de signification p) ≤ 0.01 ;

$\chi^2 \geq 10.827$, la probabilité alpha (ou degré de signification p) ≤ 0.001 .

Le test de **probabilité exacte de Fisher** constitue une alternative au test Khi-deux quand l'effectif est faible. Dans ce test, le (p) doit être également inférieur à 0,05 pour que la liaison soit statistiquement significative.

Si l'effectif est supérieur à 40, le test Khi-deux peut être utilisé. S'il est compris entre 20 et 40, ce test peut être évalué. Par ailleurs, il ne paraît approprié que si toutes les fréquences attendues sont supérieures ou égales à 5. Donc dans ce cas (effectif compris entre 20 et 40), un test de Fisher est plus valable [213].

Quand l'échantillonnage est inférieur à 20, le test de Fisher est le plus valide et le plus fiable [213].

III.3.4.1. Etude épidémiologique

Notre série est composée de formes cliniques variées que nous avons réparties en 2 catégories:

- 25 formes multibacillaires : 19 cas de scrofuloderme, 5 cas de gommages et 1 cas de tuberculose ulcéreuse orificielle,
- 11 formes paucibacillaires : 10 cas de lupus tuberculeux, 6 cas de tuberculose verruqueuse, 3 cas d'érythème induré de Bazin, un cas de tuberculides et un cas d'érythème noueux.

Ces formes de tuberculose cutanée peuvent être classées d'une autre manière en 2 groupes :

- 41 formes de tuberculose cutanée vraie : 19 cas de scrofuloderme, 5 cas de gommages, 1 cas de tuberculose ulcéreuse orificielle, 10 cas de lupus tuberculeux et 6 cas de tuberculose verruqueuse.

- 5 formes réactionnelles : 3 cas d'érythème induré de Bazin, un cas de tuberculides et un cas d'érythème noueux.

Selon le sexe une prédominance masculine est observée avec un nombre de 28 hommes pour 18 femmes donc un sexe ratio de 1,5 (Tableau XIII).

Pour l'âge des malades, la tranche d'âge se situant entre 16 et 40 ans (celle de l'adulte jeune) est la plus ciblée (nombre déchiffré à 30 cas ce qui représente les 65,2 %) (Figure 52). Les extrêmes d'âge sont 8 ans et 75 ans.

Pour la wilaya de résidence: 21 malades (45,6 %) proviennent de la wilaya d'Oran qui représente le biais de recrutement. La wilaya de Mascara occupe la deuxième position (17,4 %) (Figure 53).

Tableau XIII. Répartition en fonction de l'âge et du sexe.

Sexe	Effectif	Pourcentage (%)	Moyenne d'âge +/- IC à 95 % (ans)
Masculin	28	60,9	38,7 +/- 6,7
Féminin	18	39,1	35,9 +/- 6,7
Total	46	100	37,6 +/- 4,8

Abréviations: IC: intervalle de confiance, H/F: hommes sur femmes

Fisher=0,31; p = 0,57 non significatif.

Sexe ratio H/F : 1.5

Une prédominance masculine a été retrouvée.

Clicours.COM

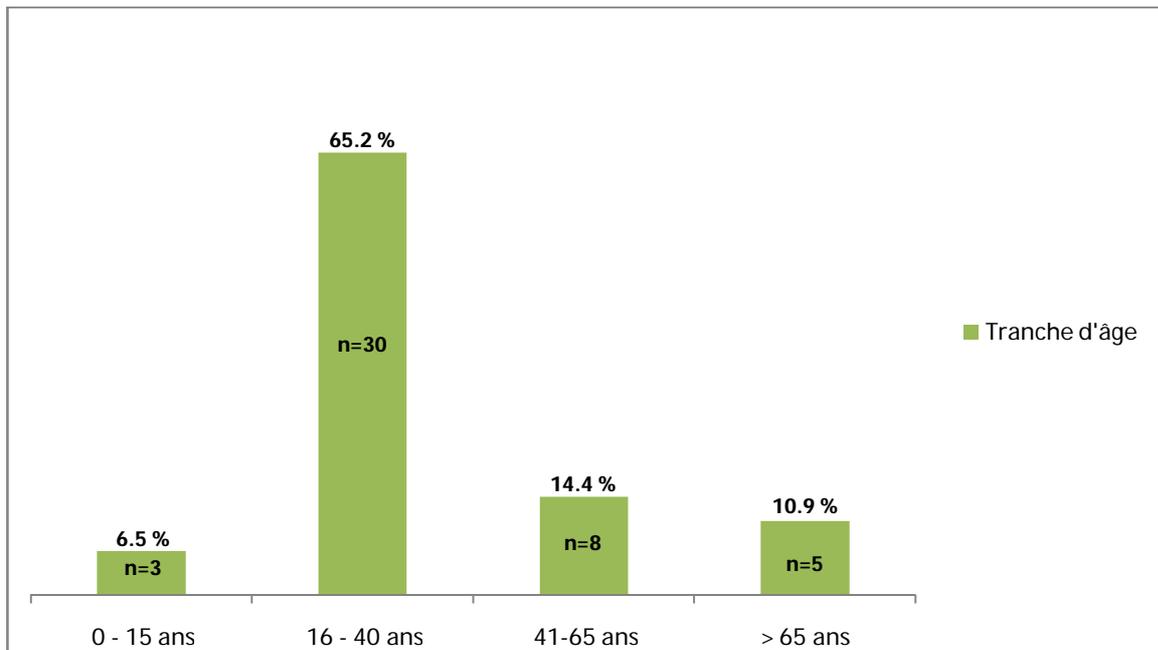
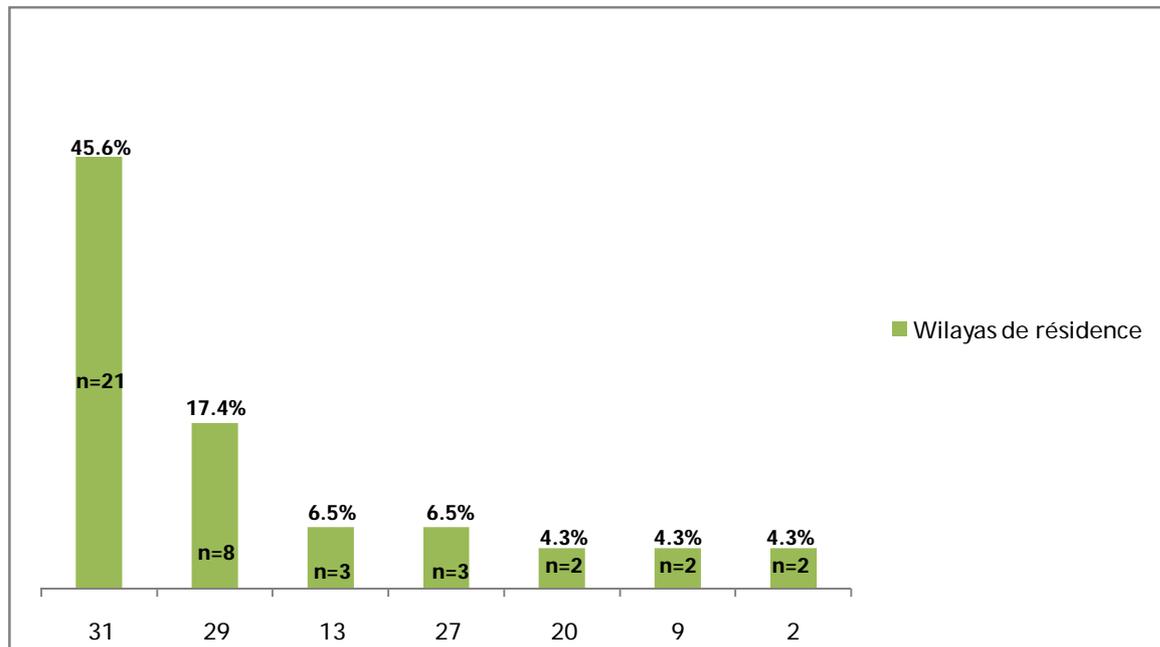


Figure 52: Répartition en fonction de la tranche d'âge.
L'adulte jeune a été le plus touché par la tuberculose cutanée.

Tableau XIV. Répartition selon l'état civil.

Etat civil	Effectif	Pourcentage (%)
Célibataire	24	52,2
Marié	21	45,6
Divorcé	1	2,2
Total	46	100

L'état civil n'a aucune influence sur la maladie.



NB : Les chiffres représentent le numéro de wilaya.

Figure 53: Répartition selon la wilaya de résidence.

21 malades (45,6 %) proviennent de la wilaya d'Oran qui représente le biais de recrutement. La wilaya de Mascara occupe la 2^{ème} position.

Un niveau socio-économique moyen a été retrouvé chez 23 patients (50 %). Par ailleurs, 7 malades (15,2 %) sont issus d'un niveau socio-économique bas (Figure 54).

Parmi les habitudes favorisantes, la notion de promiscuité est relevée dans un cas (Tableau XV) et le mode de vie rural dans 4 cas (8,6 %) (Figure 55).

Certains malades ont une profession exposée : 5 fermiers (11 %), 4 bouchers (9 %) et 1 professionnel de santé (2 %). Par contre 22 malades (48 %) appartiennent à la population inactive (Figure 56).

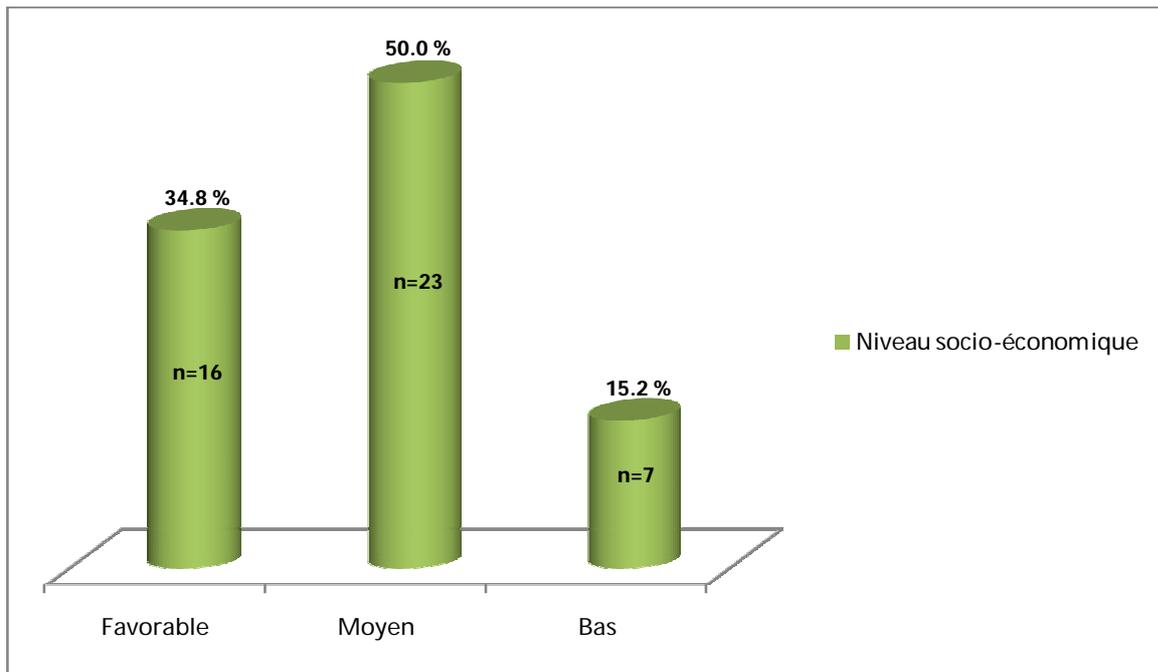


Figure 54: Répartition en fonction du niveau socio-économique.

Un niveau socio-économique bas a été retrouvé chez 7 patients (15,2 %). Un niveau socio-économique moyen a été relevé chez 23 malades (50 %).

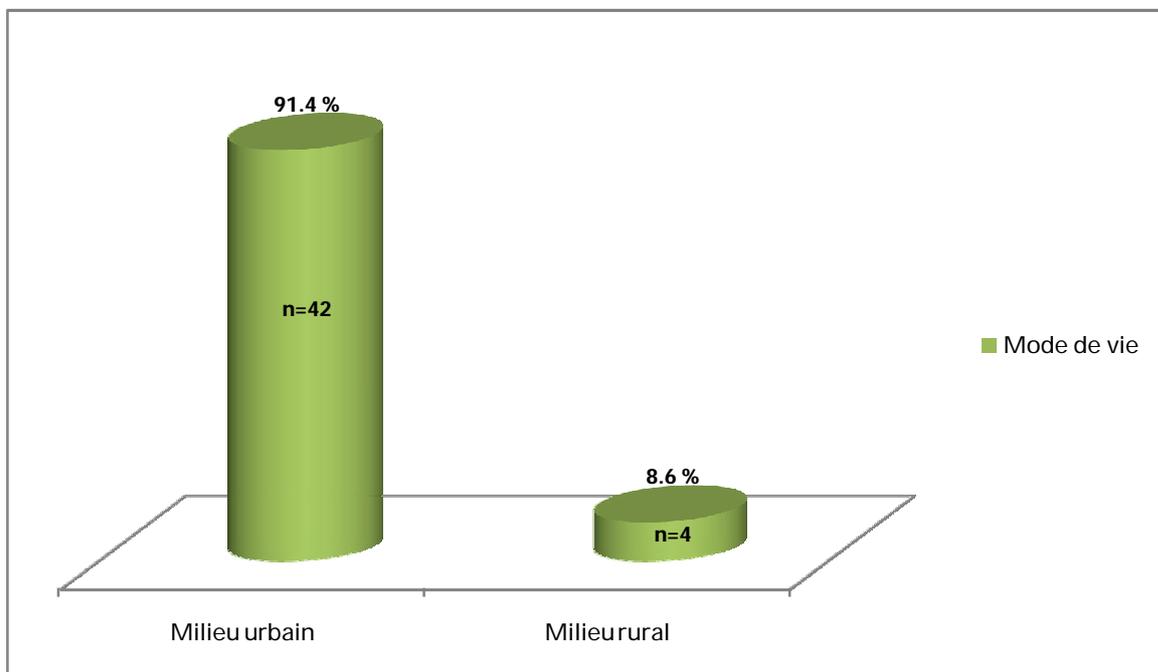


Figure 55: Mode de vie.

42 malades (91,4 %) sont issus d'un milieu urbain, un nombre de 4 (8,6 %) d'un milieu rural.

Tableau XV. Habitudes de vie.

Habitudes de vie	Effectif
Tabagisme	5
Ethylisme	4
Toxicomanie	1
Promiscuité (incarcération)	1
Total	11

Parmi les habitudes de vie rencontrées chez certains malades, le tabagisme occupe la première place. Viennent ensuite l'éthylisme, la toxicomanie et la promiscuité.

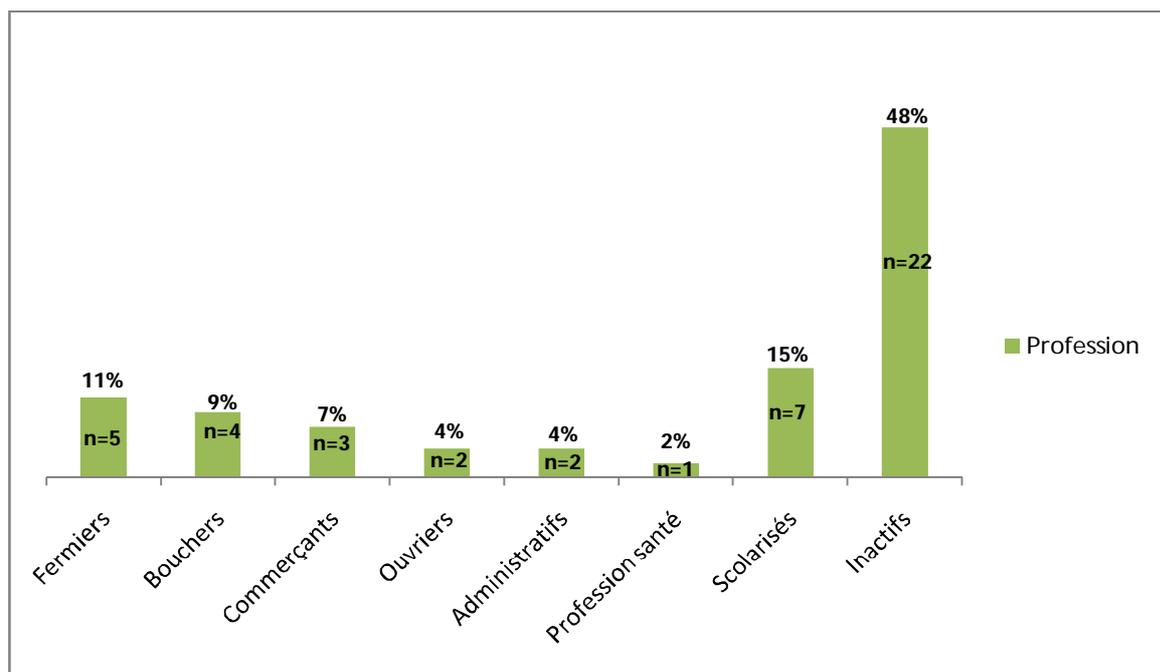


Figure 56: Répartition selon la profession.

Hormis certaines professions exposantes retrouvées (entretien de fermes, boucherie, soins des malades), la population inactive représente les 48 % des malades.

Le contage tuberculeux est observé chez 11 patients (23,9 %) (Figure 57).

La cicatrice du BCG est retrouvée chez 42 malades (89 %) alors que tous les malades ont été vaccinés (Figure 58).

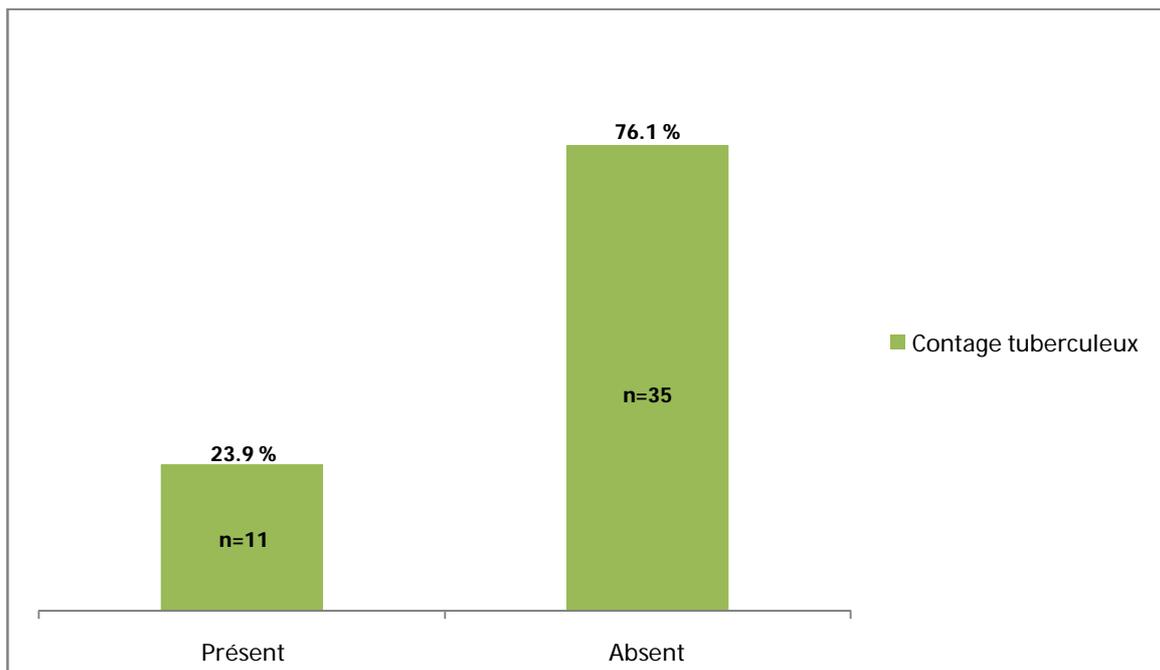


Figure 57: Le contage tuberculeux.

Le contage tuberculeux dans l'entourage a été retrouvé chez 11 cas (23,9 %).

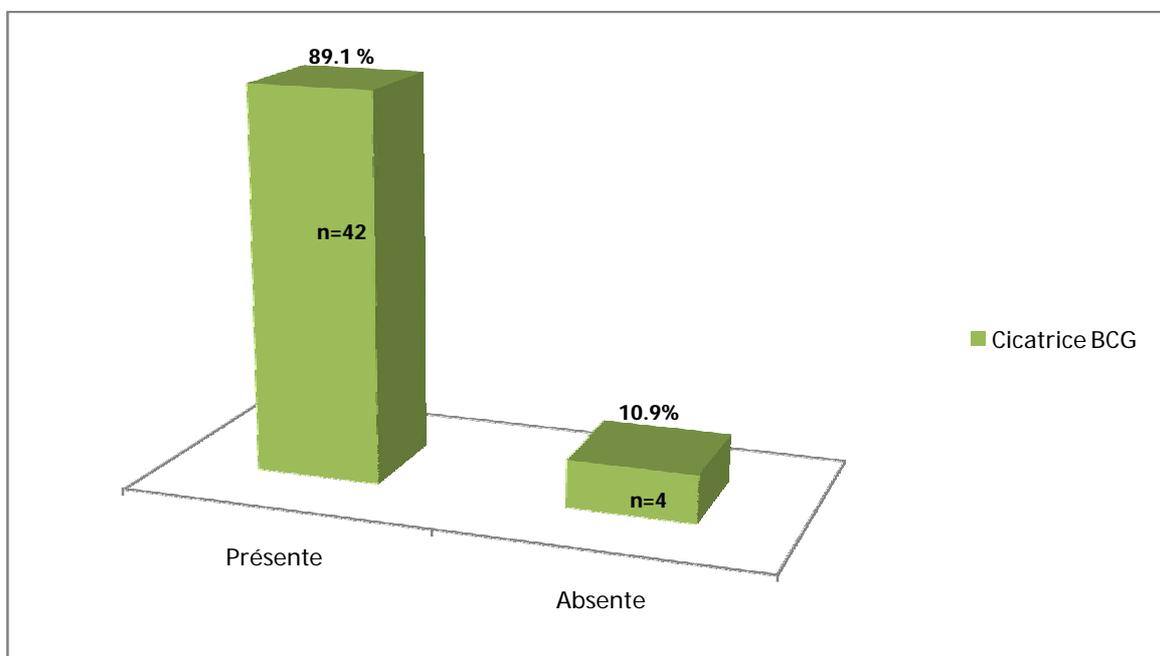


Figure 58: La cicatrice du BCG.

La cicatrice vaccinale de BCG est retrouvée chez 42 malades (89,1 %). On note que tous les patients ont été vaccinés.

Tableau XVI. Interprétation de l'IDRT en fonction de la présence de la cicatrice de BCG.

C. BCG	Présente				Absente			
	P			N	P			N
Total	37			5	3			1
%	80,4			10,9	6,5			2,2
M (mm)	>15	10≤IDRT≤15	6≤IDRT≤10	<6	>15	10≤IDRT≤15	6≤IDRT≤10	<6
Effectif	30	7	0	5	2	1	0	1
%	65,2	15,2	0	10,8	4,3	2,2	0	2,2

Abréviations: C.: cicatrice, M: mensuration, IDRT: intradermo-réaction à la tuberculine, P: positive, N: négative, mm: millimètres, %: pourcentage.

L'intradermoréaction à la tuberculine jugée positive chez les 40 patients (86,9 %). La mensuration estimée supérieure à 15 mm de diamètre est la plus fréquente.

Une durée d'évolution inférieure à un an rencontrée chez 24 malades (52,2 %). Une durée d'évolution supérieure à 5 ans observée dans 3 cas (6,5 %) (Figure 59).

Les antécédents: la recherche d'une morbidité retrouve un cas de sida, mais aucune affection tuberculeuse n'a été rapportée (Tableau XVII).

Les signes d'imprégnation tuberculeuse sont retrouvés dans 15 cas (32,6 %) (Figure 60).

La positivité de l'intradermo-réaction à la tuberculine a été relevée chez 40 patients (86,9 %), avec mensuration de l'induration dépassant les 15 mm de diamètre dans 32 cas (69,5 %). (Tableau XVI).

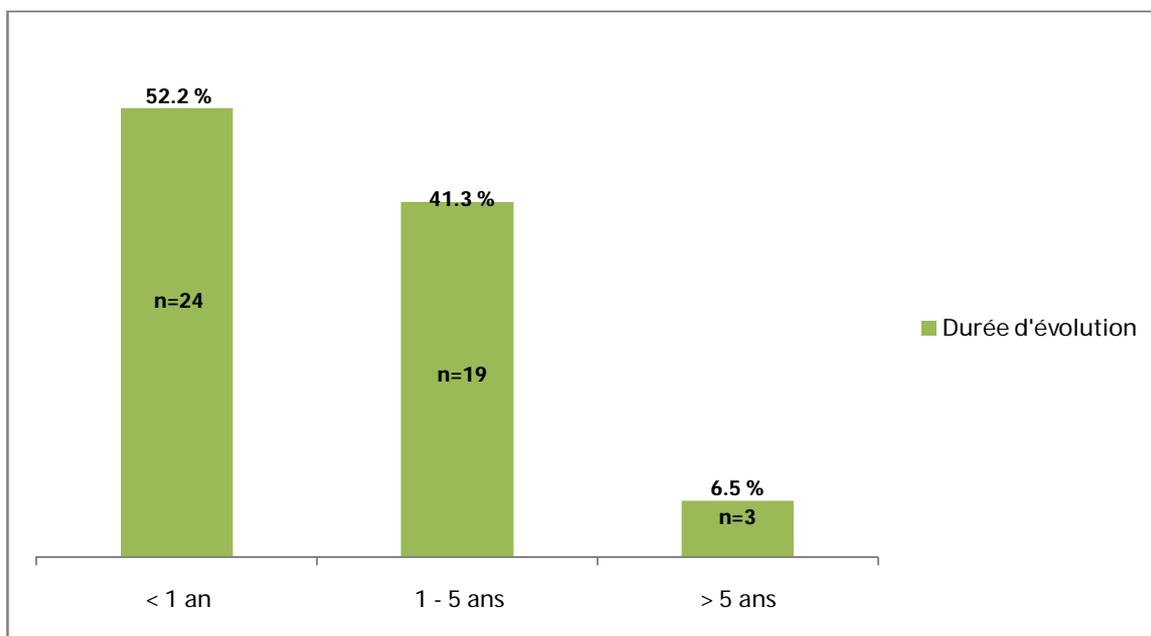


Figure 59: Répartition selon la durée de l'évolution.

La durée d'évolution avant la consultation ne dépassant pas une année a été retrouvée chez 24 cas (52,2 %). 3 malades (6,5 %) ont laissé évoluer leur maladie après un délai de 5 ans.

Tableau XVII. Antécédents personnels médicaux.

Antécédents médicaux	Effectif	Pourcentage (%)
Sida	1	2,2
Diabète	3	6,5
Fièvre typhoïde	1	2,2
Hépatite B	1	2,2
Méningite	1	2,2
Infection ORL	1	2,2
Cataracte	1	2,2
Arthrose	1	2,2
HTA avec néphropathie	1	2,2
Maladie psychiatrique	1	2,2
Absents	34	73,9
Total	46	100

Alors qu'il n'y pas d'antécédents morbides particuliers rapportés par l'interrogatoire, nous avons retrouvé fortuitement des atteintes extra cutanées associées, représentées en premier lieu par les localisations pulmonaire et osseuse (à partir de bilan radiologique), et qui ont été chacune estimées au nombre de 5 (10,8 %) (Tableau XVIII).

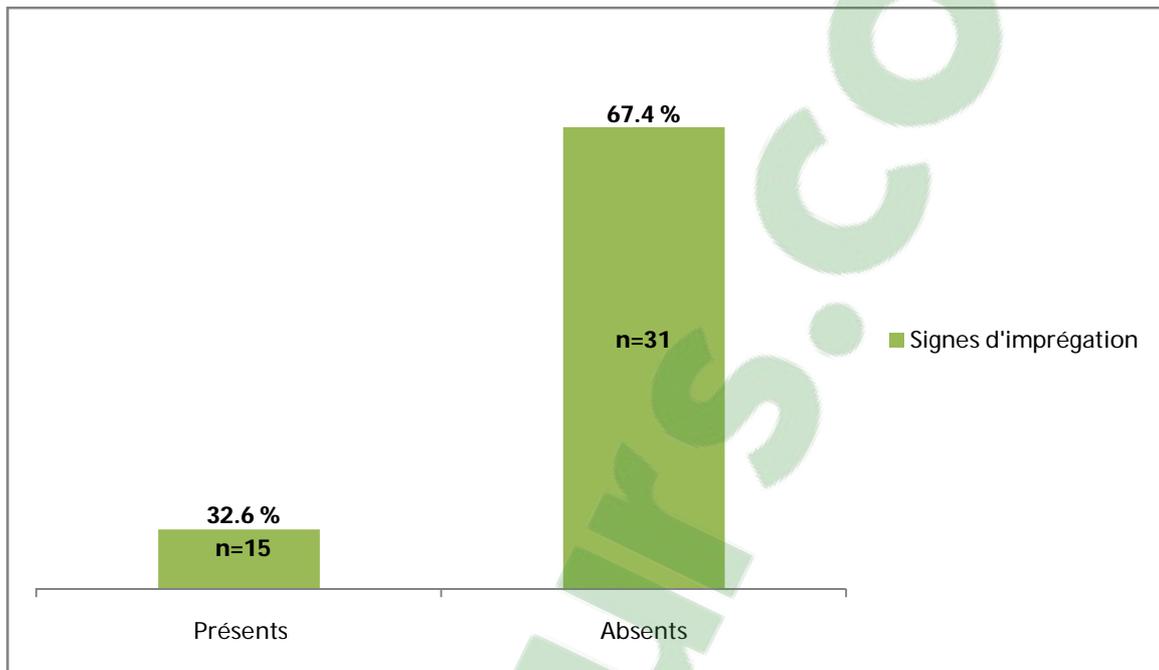
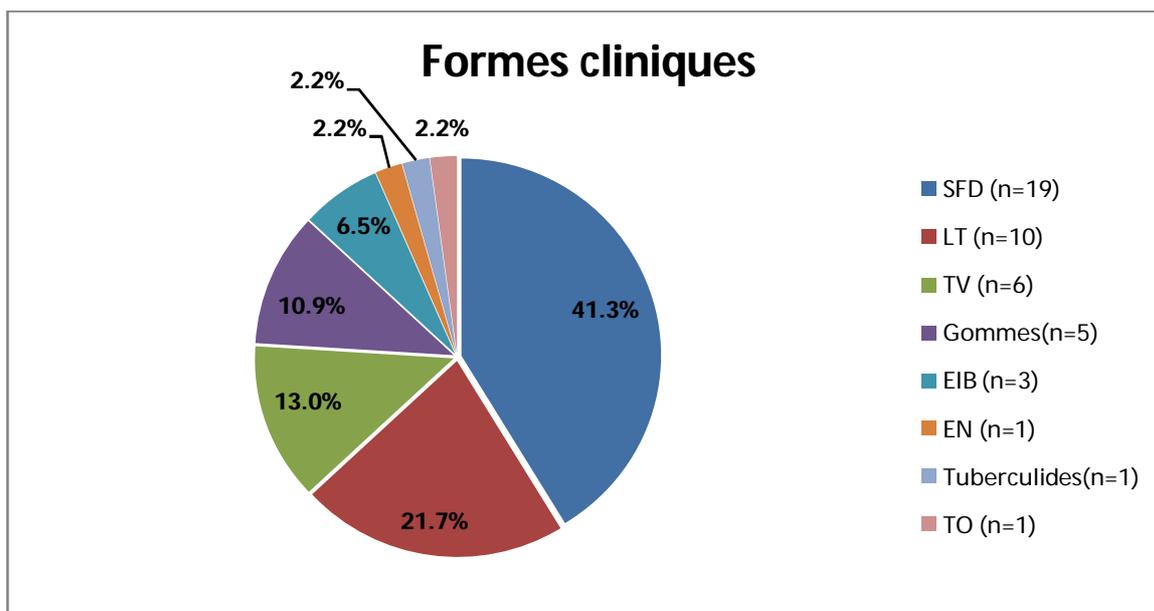


Figure 60: Signes d'imprégnation.

Les signes d'imprégnation ont été présents chez 15 patients (32,6 %).

Parmi les aspects cliniques les plus fréquents : (Figure 61)

- le scrofuloderme occupe la 1^{ère} place et présent dans 19 patients (41,3 %),
- le lupus tuberculeux diagnostiqué chez 10 patients (21,7 %).



Abréviations: SFD : scrofuloderme. LT : lupus tuberculeux, TV : tuberculose verruqueuse, EIB : érythème induré de Bazin, EN : érythème noueux, TO : tuberculose orificielle, n : nombre.

Figure 61: Répartition selon les formes cliniques.

La 1^{ère} place a été représentée par ordre de fréquence par le scrofuloderme retrouvé dans 19 cas (41,3 %). La 2^{ème} position occupée par le lupus tuberculeux diagnostiqué chez 10 patients (21,7 %).

Tableau XVIII. Localisations extra-cutanées associées.

Localisations	Nombre
Pulmonaire	5
Osseuse	5
Ganglionnaire	3
Pleurale (pleurésie)	3
Péritonéale (ascite)	2
Mammaire (mastite)	1
Intestinale	1
Total	20

Parmi les localisations tuberculeuses extracutanées associées, les plus fréquentes représentées par l'atteinte pulmonaire et osseuse.

L'examen histologique d'un fragment cutané effectué chez les 46 patients a révélé un aspect du follicule de Köester sans nécrose caséuse, rencontré chez 24 malades (52,2 %). Alors que l'aspect spécifique que représente la nécrose caséuse, est retrouvé chez 15 patients (32,6%). Ces 2 signes c'est-à-dire le granulome tuberculoïde avec ou sans la nécrose caséuse, représentent un aspect concluant retrouvé en totalité dans 84,8 %. Alors que l'absence du granulome tuberculoïde et de la nécrose caséuse, ce qui représente l'aspect non concluant est observé dans 7 cas (15,2 %) (Figure 62).

L'examen cytologique du pus n'a été pratiqué que chez 17 malades : une nécrose caséuse retrouvée chez 5 patients (29,4 %), l'aspect de granulome tuberculoïde sans nécrose caséuse chez 3 malades (17,6 %). Donc au total, l'aspect concluant fait de granulome tuberculoïde ou de nécrose caséuse, rencontré dans 8 cas sur les 17 patients (47 %). Par ailleurs, l'examen cytologique n'a pas été concluant dans 9 cas (53 %) (Figure 63).

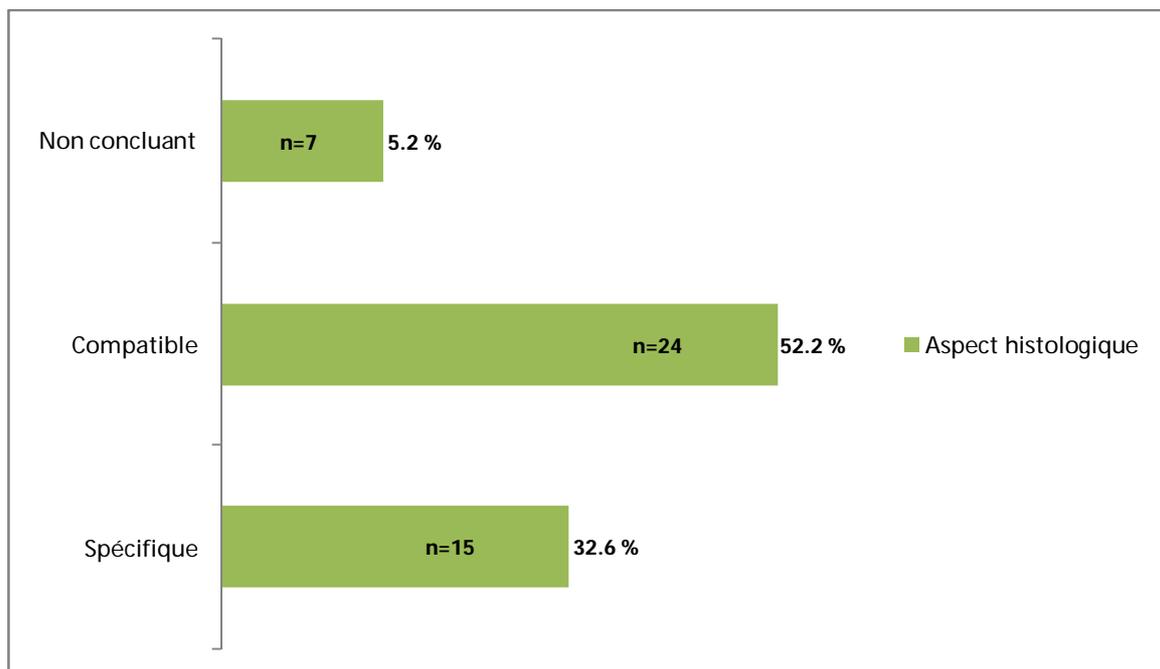


Figure 62: Répartition selon les aspects histologiques.

L'aspect histologique le plus fréquemment rencontré a été représenté par le follicule épithélio-gigantocellulaire sans nécrose caséuse réalisant un aspect compatible avec la tuberculose. Cet aspect a été retrouvé chez 24 malades (52,2 %).

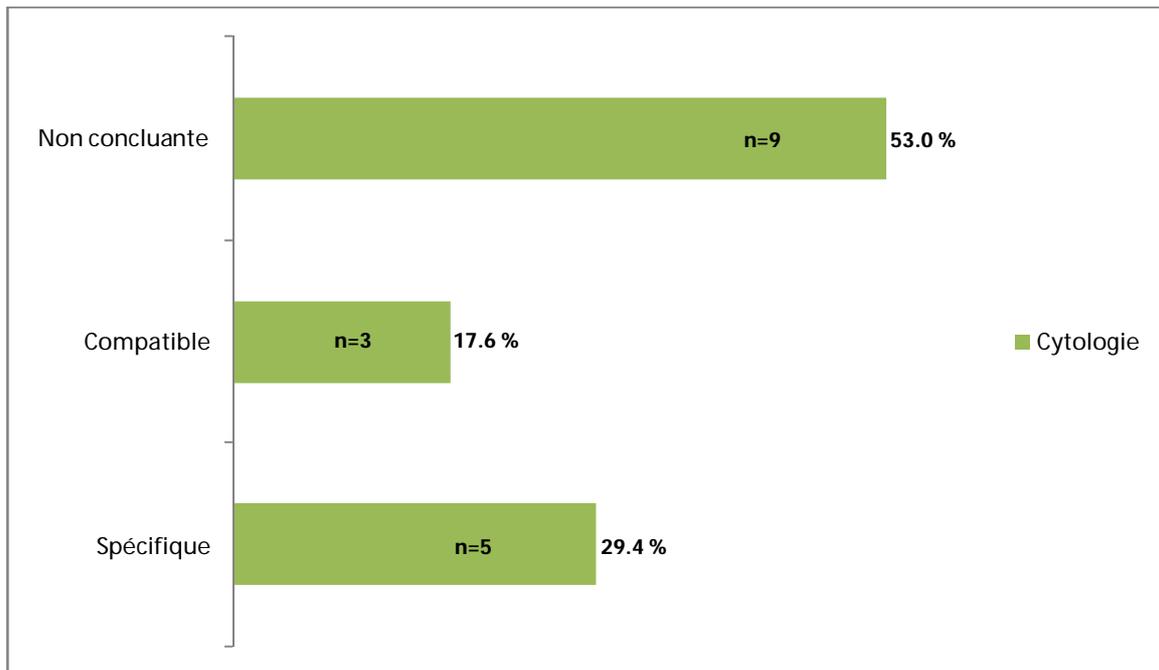


Figure 63: Répartition selon les résultats de la cytologie (pus).

L'examen cytologique n'a pu être fait que chez 17 patients (en fonction de la forme clinique). Les résultats de cet examen ont objectivé une prédominance de l'aspect non compatible c'est-à-dire l'absence du granulome tuberculoïde et de la nécrose caséuse rencontrée chez 9 cas (53,3 %). Par ailleurs l'aspect spécifique représenté par la présence de la nécrose caséuse a été retrouvé chez 5 malades (29,4 %).

La culture sur le milieu solide pratiquée chez les 46 malades s'est révélée positive dans 14 cas (30,4 %) (Figure 64). Les 14 cas sont représentés par 9 scrofulodermes, 3 gommes, 1 tuberculose verruqueuse et 1 lupus tuberculeux.

La PCR par la méthode de Xpert® MTB/RIF effectuée chez les 46 patients est positive dans 10 cas (21,7 %) (Figure 65). Les 10 cas sont constitués par 6 scrofulodermes, 3 gommes et 1 tuberculose verruqueuse.

Dans les 25 cas de formes multibacillaires, la PCR s'est révélée positive chez 9 malades (36 %) (Figure 66). Dans les 21 cas de formes paucibacillaires, elle est positive dans un seul cas (4,8 %) (Figure 67).

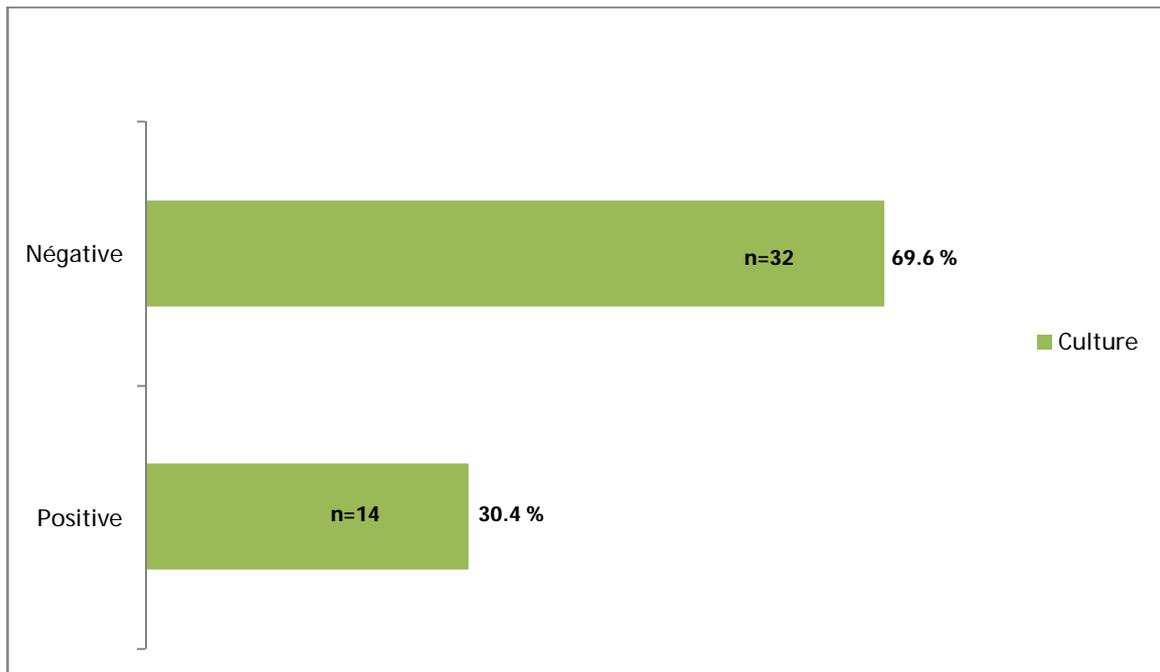


Figure 64: Résultats de la culture.

La culture du fragment cutané et/ou du pus a été positive dans 30,4 % des cas de tuberculose cutanée sous toutes ses formes multibacillaires et paucibacillaires.

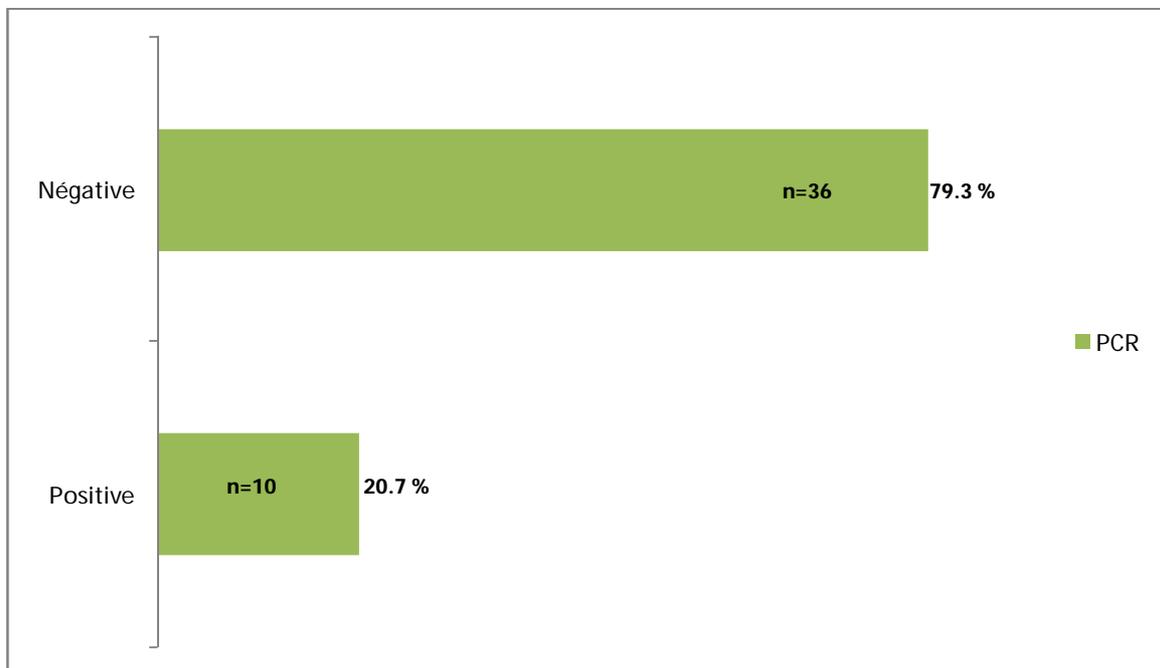
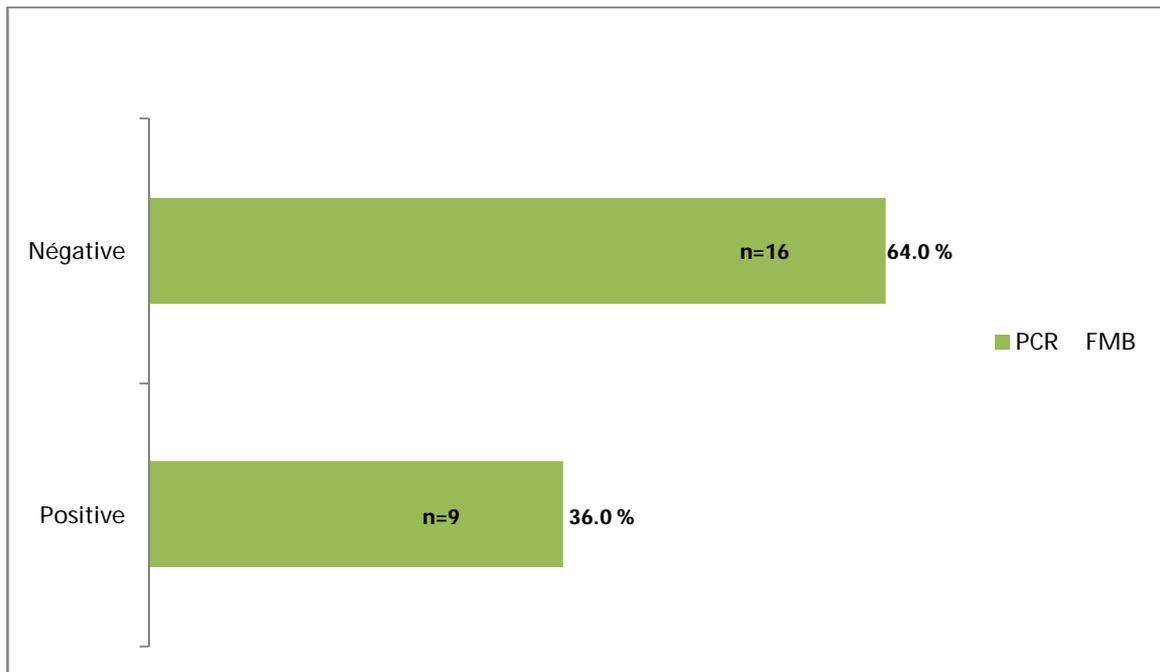
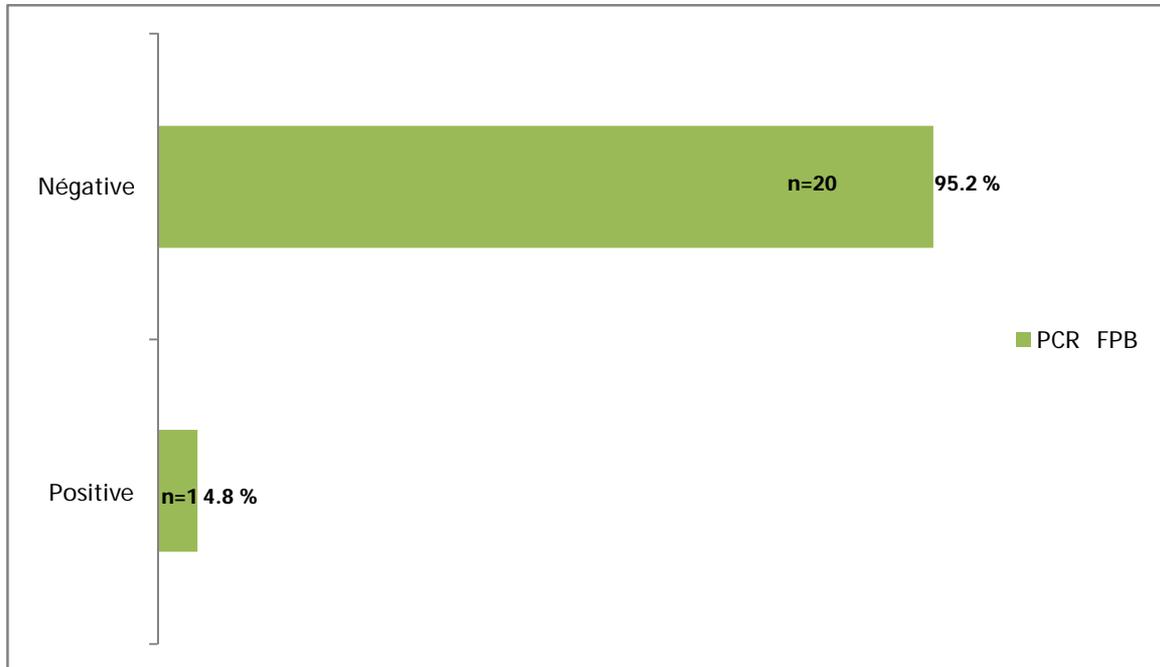


Figure 65: Répartition selon les résultats de la PCR.



Abréviation : FMB : Formes multibacillaires.

Figure 66: Résultats de la PCR dans les formes multibacillaires.



Abréviation : FPB : Formes paucibacillaires.

Figure 67: Résultats de la PCR dans les formes paucibacillaires.

Le traitement antituberculeux : les protocoles utilisés (Tableau XIX)

- 2RHZ/4RH chez 34 malades (74 %).
- 2RHZE/4RH chez 6 malades (13,1 %).
- 2RHZE/10RH chez 2 malades (4,3 %).
- autres (sulfones, aminosides....) chez 4 patients (8,6 %).

La réponse au traitement (Figure 68) :

- favorable chez 38 cas (82,6 %), même chez les malades dont la PCR est négative.
- défavorable (absence de réponse ou rechute) chez 3 malades (6,6 %).
- indéterminée chez 5 patients (10,8 %).

Tableau XIX. Répartition selon le protocole thérapeutique

Protocole thérapeutique	Effectif	Pourcentage (%)
2RHZ/4RH	34	74,0
2RHZE/4RH	6	13,1
2RHZE/10RH	2	4,3
Sulfones	2	4,3
Autres	2	4,3
Total	46	100

Abréviations: R: rifampicine, H: isoniazide, Z: pyrazinamide, E: éthambutol, 2: 2 mois, 4: 4mois, 10 : 10 mois.

Plusieurs protocoles de traitement antituberculeux ont été instaurés. Le choix s'est fait en fonction de l'association ou non avec un autre foyer tuberculeux et de la nature de cette localisation extra-cutanée. La trithérapie de 1^{ère} ligne a été la plus utilisée (74 %).

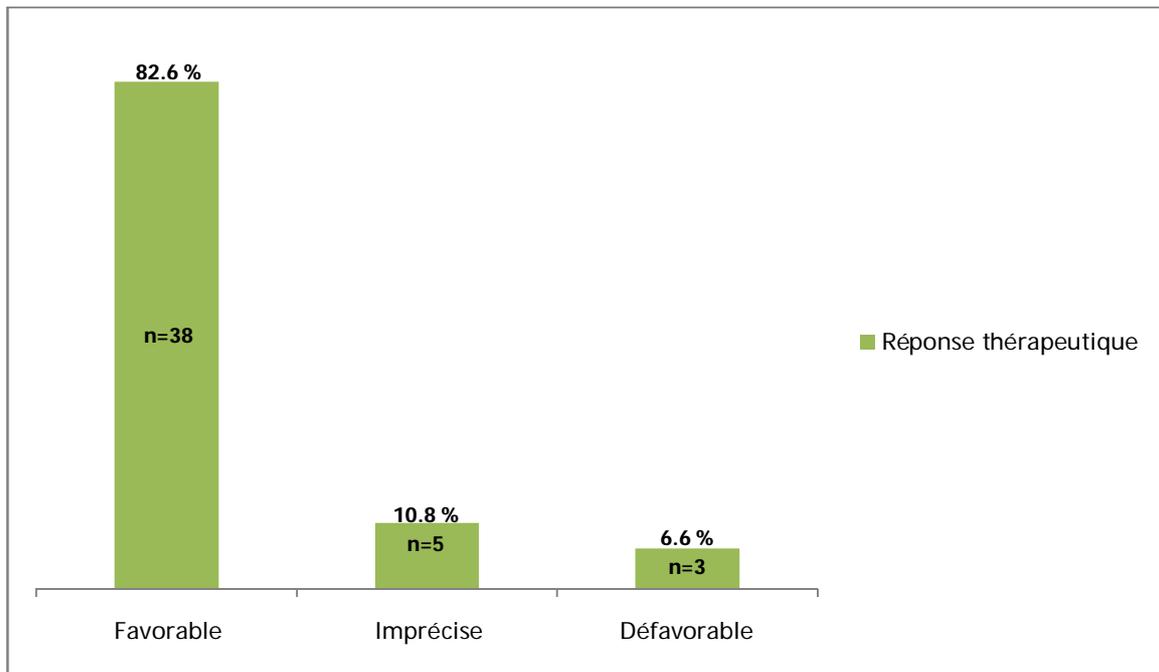


Figure 68: La réponse au traitement

La réponse thérapeutique a été favorable chez 38 malades (82,6 %)

La comparaison des résultats de la PCR et des résultats de la culture :

D'une façon globale ont été estimées (Tableau XX) :

- 1-la sensibilité à 71,5 %.
- 2-la spécificité à 100 %.
- 3-la valeur prédictive positive à 100 %.
- 4-la valeur prédictive négative à 88,9 %.

Pour les formes multibacillaires de la tuberculose cutanée ont été estimées (Tableau XXI) :

- 1-la sensibilité à 75 %.
- 2-la spécificité à 100 %.
- 3-la valeur prédictive positive à 100 %.
- 4-la valeur prédictive négative à 81,2 %.

Pour les formes paucibacillaires de la tuberculose cutanée ont été évaluées (Tableau XXII) :

- 1-la sensibilité à 50 %.

2-la spécificité à 100 %.

3-la valeur prédictive positive à 100 %.

4-la valeur prédictive négative à 95 %.

Tableau XX. Comparaison la PCR et la culture dans la tuberculose cutanée.

	Culture positive	Culture négative	Total
PCR positive	10	0	10
PCR négative	4	32	36
Total	14	32	46

VPP=100%

VPN=88,9%

Sensibilité = 71,5 %

Spécificité = 100 %

Exact de Fisher : p = 0,0000.

Tableau XXI. Comparaison des résultats de la PCR et de la culture dans les formes multibacillaires.

	Culture positive	Culture négative	Total
PCR positive	9	0	9
PCR négative	3	13	16
Total	12	13	25

VPP=100%

VPN=81,2%

Sensibilité = 75 %

Spécificité = 100%

Exact de Fisher : p = 0,0001.

Tableau XXII. Comparaison des résultats de la PCR et de la culture dans les formes paucibacillaires.

	Culture positive	Culture négative	Total
PCR positive	1	0	1
PCR négative	1	19	20
Total	2	19	21

VPP=100%

VPN=95%

Sensibilité = 50 %

Spécificité = 100 %

Exact de Fisher : p = 0,095.

La comparaison des résultats de la PCR par la technique du Xpert[®] MTB /RIF et des résultats de l’histologie d’une part et de la cytologie d’autre part:

Avec les résultats de l’histologie (Tableau XXIII) :

1-la sensibilité a été de 20,5 %.

2-la spécificité a été de 71,4 %.

3-la valeur prédictive positive a été de 80 %.

4-la valeur prédictive négative a été de 13,9 %.

Tableau XXIII. Comparaison des résultats de la PCR et de l’histologie

	Histologie concluante	Histologie non concluante	Total
PCR positive	8	2	10
PCR négative	31	5	36
Total	39	7	46

VPP=80%

VPN=13,9%

Sensibilité = 20,5 %

Spécificité = 71,4 %

Exact de Fisher : p =0,63.

Avec les résultats de la cytologie du pus (pratiquée que chez 17 malades), ont été estimées (Tableau XXIV) :

- 1- la sensibilité à 75 %.
- 2- la spécificité à 77,8 %.
- 3- la valeur prédictive positive à 75 %.
- 4- la valeur prédictive négative à 77,8 %.

Tableau XXIV. Comparaison des résultats de la PCR et de la cytologie (pus).

	Cytologie concluante	Cytologie non concluante	Total
PCR positive	6	2	8
PCR négative	2	7	9
Total	8	9	17

VPP=75%

VPN=77,8%

Sensibilité = 75 %

Spécificité = 77,8 %

Exact de Fisher : $p = 0,05$.

Tableau XXV. La culture et les formes cliniques.

Formes cliniques	Culture positive	Culture négative	Total
Formes multibacillaires Scrofuloderme T.orificielle Gommes	12	13	25
Formes paucibacillaires Lupus tuberculeux T.verruqueuse Eryth.induré Bazin Tuberculides Erythème noueux	2	19	21
Total	14	32	46

Abréviations : T. : tuberculose, Eryth. : érythème.

Khi -deux = 7,9 ; $p < 0,005$.

Tableau XXVI. La PCR et les formes cliniques.

Formes cliniques	PCR positive	PCR négative	Total
Formes multibacillaires Scrofuloderme T.orificielle Gommes	9	16	25
Formes paucibacillaires Lupus tuberculeux T.verruqueuse Eryth.induré Bazin Tuberculides Erythème nouveau	1	20	21
Total	10	36	46

Abréviations : T. : tuberculose, Eryth. : érythème.

Khi -deux = 4,2 ; p <0,05.

Tableau XXVII. L'IDRT et les formes cliniques.

Formes cliniques	IDRT positive	IDRT négative	Total
Formes multibacillaires Scrofuloderme T.orificielle Gommes	21	4	25
Formes paucibacillaires Lupus tuberculeux T.verruqueuse Eryth.induré Bazin Tuberculides Erythème nouveau	19	2	21
Total	40	6	46

Abréviations : T. : tuberculose, Eryth. : érythème.

Khi -deux =0,04 ; p = 0,8.

III.3.4.2. Interprétation des tests statistiques

Nous avons évalué la performance de la PCR par rapport aux autres moyens de diagnostic, à savoir la culture, l'examen histologique des prélèvements cutanés et même la cytologie du pus (quand il existe dans les lésions), à travers une série de 46 malades présentant des signes cliniques et immunologiques évoquant une tuberculose cutanée.

Au terme de notre étude, nous avons conclu que la liaison est statistiquement significative entre les tests de:

- la PCR et la culture d'une façon globale avec un exact de Fisher : (p) égal à 0,0000 (Tableau XX).

- la PCR et la culture dans les formes multibacillaires avec un exact de Fisher : (p) égal à 0,0001 (Tableau XXI).

- la PCR et l'examen cytologique du pus avec un exact de Fisher : (p) égal à 0,05 (Tableau XXIV).

- la PCR et les formes cliniques avec un Khi-deux (χ^2) égal à 4,2 et un degré de signification (p) inférieur à 0,05 (Tableau XXVI).

- la culture et les formes cliniques avec un Khi-deux (χ^2) égal à 7,9 et un degré de signification (p) inférieur à 0,005 (Tableau XXV).

Par ailleurs la liaison est statistiquement non significative entre :

- la PCR et la culture dans les formes paucibacillaires où l'exact de Fisher : (p) est égal à 0,095 (Tableau XXII).

- la PCR et l'histologie où l'exact de Fisher (p) est égal à 0,63 (Tableau XXIII).

- l'IDRT et les formes cliniques avec un Khi-deux (χ^2) égal à 0,04 et un degré de signification (p) égal à 0,8 (Tableau XXVII).

D'autres parts les conditions d'application des autres tests statistiques n'ont pas pu être vérifiés vu le nombre insuffisant des malades.

CHAPITRE VI

DISCUSSION ET CONCLUSION

I.V.1. DISCUSSION

La tuberculose cutanée demeure cependant rare et de fréquence stable depuis plusieurs décennies. Son diagnostic est toujours difficile en raison du polymorphisme anatomo-clinique et de la multiplicité des diagnostics différentiels. Cependant, l'identification du bacille tuberculeux est nécessaire pour un diagnostic définitif. Toutefois, le tissu cutané est peu favorable pour la reproduction de ces bacilles par rapport au tissu pulmonaire (oxygénation moindre) d'autant plus que leur vitesse de croissance est lente. Cette lenteur est prouvée par le long délai nécessaire pour l'obtention de colonies en culture (4-6 semaines) [183].

L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDRT) ne permet pas un diagnostic précis et indique seulement si le patient a été en contact avec le *Mycobacterium tuberculosis*. Ce test peut conduire à des résultats faussement négatifs en cas d'anergie (cas de malnutrition par exemple) [183].

Afin de pallier aux insuffisances de l'IDRT une nouvelle méthode de diagnostic plus performante a été récemment développée pour détecter l'infection tuberculeuse latente par le dosage de l'interféron gamma (le Quantiféron®) [58,129-131]. Il est à noter que cet examen à lui seul n'est pas un outil de diagnostic [132].

Afin d'améliorer le diagnostic de la tuberculose extra-pulmonaire en général et de la tuberculose cutanée en particulier, plusieurs études ont essayé d'évaluer les performances de l'amplification génique dans le diagnostic exact et rapide de cette affection. Des résultats variables ont été obtenus.

Pour effectuer notre étude, nous avons eu recours à la méthode Gene Xpert. La technique Xpert® MTB/RIF est une technique très originale vu la simplicité de la manipulation et la fiabilité de ses résultats. Elle est capable de détecter les inhibiteurs et utilise des cartouches à usage unique, empêchant la contamination. Cela pourrait nous faire éviter des résultats faussement négatifs d'une part, et des résultats faussement positifs d'autre part. [171,206,207].

De nombreuses études ayant utilisé la méthode Gene Xpert pour analyser des échantillons de lésions de tuberculose extrapulmonaire, incluant non seulement

des biopsies cutanées, du pus d'abcès mais aussi d'autres prélèvements (cardiaques, gynécologiques, digestifs, urinaires, fluides corporels, LCR...) sans préciser l'effectif des biopsies cutanées [214-218] (Figure 69).

De ce fait, nous n'avons pas pu retrouver des publications concernant des études consacrées uniquement au diagnostic de la tuberculose cutanée.

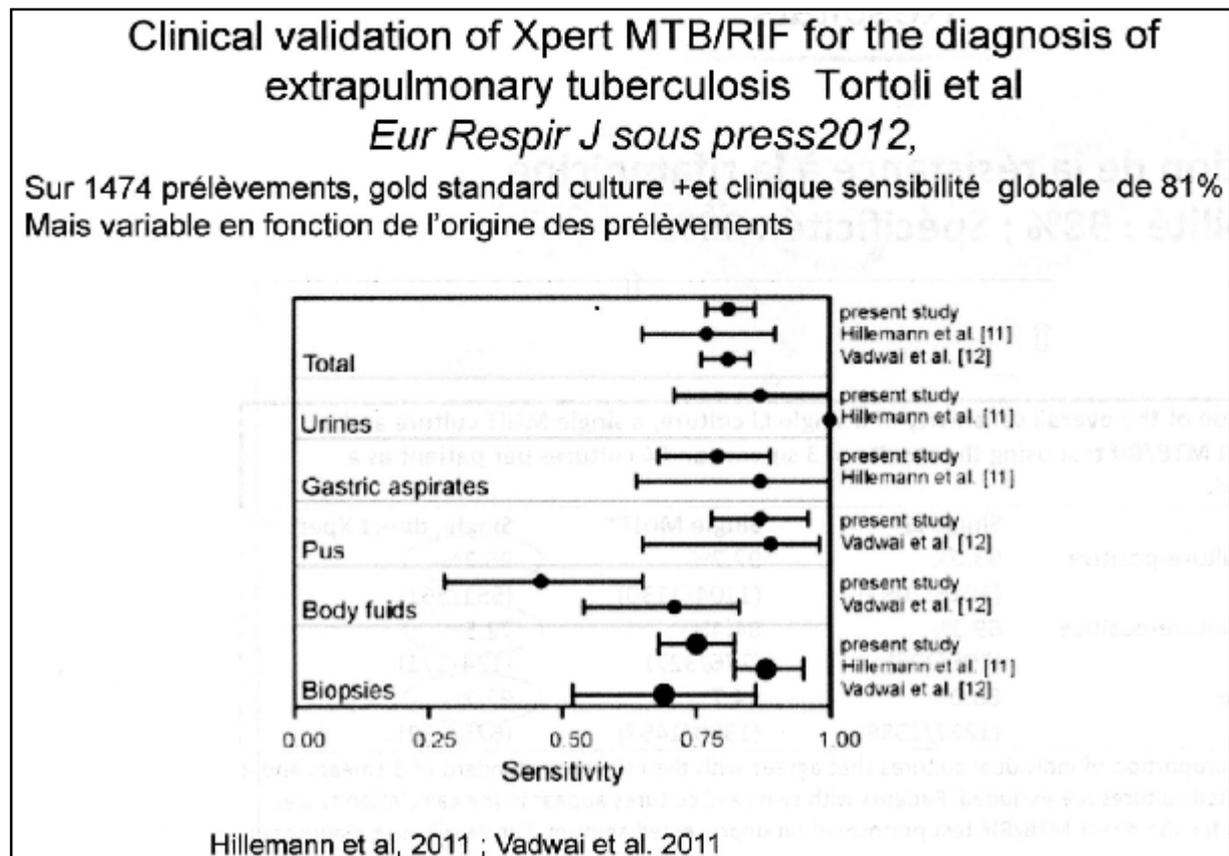


Figure 69: Apport des tests Xpert® MTB/RIF pour le diagnostic de la tuberculose extrapulmonaire (étude publiée par E. Tortoli 2012) [170,218].

La comparaison des résultats de la PCR a été faite essentiellement avec ceux de la culture et de l'histologie, qui restent les examens de références dans le diagnostic de la tuberculose cutanée.

Dans la majorité des études, la sensibilité globale avoisine les 70 %. Elle varie selon les formes cliniques qu'elles soient multibacillaires ou paucibacillaires ou qu'elles appartiennent au groupe des tuberculoses cutanées vraies ou celui des

formes réactionnelles (selon la classification adoptée par les auteurs). La spécificité varie entre les 90 et 100 %.

Nous avons procédé à une comparaison entre les profils épidémiologiques (quand les différents paramètres sont précisés) et entre les résultats des différents examens à visée diagnostique d'une part et de la PCR d'autre part.

La comparaison des résultats obtenus dans nos 46 cas de tuberculose cutanée avec l'utilisation d'une PCR classique pratiquée dans d'autres études rapportées dans la littérature [98,182-185].

Durée de l'étude et le nombre de cas recensés (Tableau XXVIII) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis) : durée de 2 ans (Janvier 2008-Janvier 2010), 65 cas (32,5 cas par an).
- l'étude chinoise (C.K.Ho) : durée de 10 ans (1993-2000), 147 cas (14,7 cas par an).
- notre étude : durée de 3 ans et 3 mois (Janvier 2010-Avril 2013), 46 cas (14,3 cas par an).

Sexe (Tableaux XXVIII et XXIX) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis) : 51 femmes pour 14 hommes. Sexe ratio : 0,2.
- l'étude chinoise (C.K.Ho): un rapport de 2,6 hommes pour une femme a été évalué dans les tuberculoses cutanées vraies et d'un homme pour 11,9 femmes dans les formes réactionnelles avec une prédominance féminine dans ce 2ème groupe. Au total, le sexe ratio a été estimé à 0,3.
- notre étude : 28 hommes pour 18 femmes. Le sexe ratio de 1,5.

Age (Tableaux XXVIII et XXIX) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis): les extrêmes d'âge : 15-70 ans avec une prédominance chez l'adulte jeune.
 - l'étude chinoise (C.K.Ho) : les extrêmes d'âge : 13-81 ans.
- La moyenne d'âge a été estimée à 46,8 ans. La tranche d'âge la plus touchée a été celle de l'adulte jeune.
- notre étude: les extrêmes d'âge : 8-75 ans.

La moyenne d'âge a été estimée à 37,6 ans. La tranche d'âge la plus concernée est celle de l'adulte jeune (16-40 ans), ce qui représente les 65,2 %.

Patients VIH positifs (Tableau XXIX) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis): aucun.
- l'étude chinoise (C.K.Ho) : aucun.
- l'étude de Singapour (S.H.Tan) : 14 patients immunodéprimés.
- l'étude indienne (L.Padmavathy): aucun.
- notre étude : 1 cas de VIH positif.

La notion de contagement tuberculeux (Tableau XXVIII) :

- l'étude chinoise (C.K.Ho) : retrouvée dans 4 cas sur 147 (2,7 %).
- notre étude : relevée chez 11 malades sur les 46 cas (23,9 %).

Dans les autres études, la notion de contagement tuberculeux n'a pas été mentionnée.

Les antécédents personnels de tuberculose (pulmonaire ou autre) rapportés (Tableau XXVIII) :

- dans l'étude mexicaine (A.H.Solis): chez 4 parmi les 65 malades (6 %).
- dans l'étude chinoise (C.K.Ho): dans 5 cas sur 147 (3,4 %).
- dans notre étude : pas de notion de tuberculose révélée dans les antécédents personnels.

Positivité de l'IDRT (Tableaux XXVIII et XXIX) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis): elle a été mise en évidence chez 17 malades (26 %).
- l'étude chinoise (C.K.Ho) : l'IDRT est rarement pratiquée car les résultats jugés faussés par la vaccination au BCG.
- notre étude: la positivité de l'IDRT est retrouvée chez 40 cas (86,9 %).

Tableau XXVIII. Comparaison du profil épidémiologique et des résultats les études chinoise (C.K.Ho) et mexicaine (A.H.Solis).

	Notre étude (Oran)	Etude mexicaine (A. H. Solis)	Etude chinoise (C.K. Ho)
Durée de l'étude	3ans et 3mois (Janvier 2010-Avril 2013)	2 ans (Janvier 2008-Janvier 2010)	10 ans (1993-2002)
Nombre de cas par an	14,3	32,5	14,7
Type de l'étude	Prospective	Prospective	Rétrospective
Références	Culture Histologie	Histologie Témoins	Histologie
Nombre d'échantillons/ malades	46 cas	65 cas	147 cas
Type d'échantillon	Cutanés –pus	Cutanés	Cutanés
Sexe	28H/18F Sexe ratio: 1,5	51F/14H Sexe ratio : 0,2	-2,6H/1F dans les TCV -1H/ 11,9F dans les FR Sexe ratio: 0,3
Âge	EÂ: 8-75ans Âge moyen : 37,6 ans	EÂ:15-70 ans	EÂ:13-81ans Âge moyen : 46,8ans
Tranche d'âge prédominante	AJ (16-40 ans):65,2 %	AJ	AJ
ATCDP de tuberculose (%)	0	6 (4 cas)	3,4 (5 cas)
Sujets VIH positifs	1	0	0
Notion de contage Tbc (%)	23,9 (11 cas)	-	2,7 (4 cas)
Positivité IDRT(%)	86,9	26	-
Histologie concluante (%)	84,9 (39 cas)	100	100
Type de PCR	Xpert MTB/RIF	Classique	Classique
Sensibilité de la PCR (%)	71,5	74	50 (5/10)
Spécificité de la PCR (%)	100	91	-
VPP (%)	100	94	-
VPN (%)	88,9	64	-
Sensibilité de la culture (%)	30,4 (14/46)	Milieu L-J: 6 Milieu Bactec: 14	10,6 (5/47)
Sensibilité de la microscopie (%)		14	-

Abréviations : F : femmes, H : hommes, EÂ: extrêmes d'âge, AJ : adulte jeune, ID : immunodéprimés, TCV : tuberculose cutanée vraie, L-J : Löwenstein-Jensen, VPP : valeur prédictive positive, VPN : valeur prédictive négative, FR: formes réactionnelles, TCV : tuberculoses cutanées vraies, FMB : formes multibacillaires, Tbc : tuberculeux, ATCDP : antécédents personnels.

Tableau XXIX. Comparaison du profil épidémiologique et des résultats avec 4 autres études.

	Notre étude	Etude mexicaine (A.H.Solis)	Etude chinoise (C.K. Ho)	Etude de Singapour (S.H.Tan)	Etude indienne (L.Padmavathy)
Durée de l'étude	3ans et 3mois (Janvier 2010-Avril 2013)	2 ans (Janvier 2008-Janvier 2010)	10 ans (1993-2002)		
Type d'étude	Prospective	Prospective	Rétrospective	Rétrospective	Rétrospective
Références	Culture Histologie	Histologie Témoins	Histologie	Culture	Histologie
Nombre de cas	46	65	147	105	25
Type d'échantillon	Cutanés –pus	Cutanés	Cutanés	Cutanés	Cutanés
Sexe	28H/18F Sexe ratio:1,5	51F/14H Sexe ratio: 0,2	-2,6H/1F dans les TCV -1H/ 11,9F dans les tuberculides Sexe ratio: 0,3	-	-
Âge	EA: 8-75ans ÂM : 37,6 ans	EA:15-70 ans	EA:13-81ans ÂM: 46,8ans	-	-
Tranche d'âge prédominante	AJ (16-40 ans):65,2 %	AJ	AJ	-	-
Cas VIH positifs	1	0	0	14 ID	0
Positivité IDRT(%)	86,9	26	-	-	-
Histologie concluante (%)	84,9	100	100		100
Type de PCR	Xpert MTB/RIF	Classique	Classique	Classique	Classique
Sensibilité de la PCR (%)	71,5	74	50 (5/10)	73	64
Spécificité de la PCR (%)	100	91	-	-	-
VPP (%)	100	94	-	-	-
VPN (%)	88,9	64			
Sensibilité de la culture (%)	30,4 (14/46)	Milieu de L-J: 6 Milieu Bactec :14	10,6 (5/47)	FMB: 64,2 (9/14)	0
Sensibilité de la microscopie (%)	-	14	-	-	0

Abréviations : F : femmes, H : hommes, EA : extrêmes d'âge, ÂM: âge moyen, AJ : adulte jeune, ID : immunodéprimés, TCV : tuberculoses cutanées vraies, L-J : Löwenstein-Jensen, VPP : valeur prédictive positive, VPN : valeur prédictive négative, FMB : formes multibacillaires.

Formes cliniques rencontrées (Tableau XXX) :

-l'étude mexicaine (A.H.Solis) : l'aspect gommeux représenté par 42 scrofulodermes (64,6 %), 12 lupus tuberculeux (18,5 %), 6 tuberculoses verruqueuses (9,2 %), 5 tuberculides papulo-nécrotiques (7,7 %).

-l'étude chinoise (C.K.Ho) : 2 tuberculoses ulcéreuses orificielles (1 %), 6 lupus vulgaires (4 %), 6 tuberculoses verruqueuses (4 %), 127 érythèmes indurés de Bazin (86 %), 4 tuberculides papulo-nécrotiques (3 %) et 2 formes indéterminées (1 %).

-l'étude de Singapour (S.H.Tan) : 14 formes multibacillaires, 5 lupus tuberculeux, 38 tuberculoses verruqueuses, 26 érythèmes indurés de Bazin.

- l'étude indienne (L.Padmavathy) : 6 scrofulodermes (24 %), 8 lupus tuberculeux (32%), 9 tuberculoses verruqueuses (36 %), 1 érythème induré de Bazin (4 %), 1 lichen scrofulosorum (4 %).

-l'étude indienne (S.K.Arora) : 3 scrofulodermes (30 %), 2 lupus vulgaires (20 %), 3 tuberculoses verruqueuses (30 %), 1 érythème induré de Bazin (10 %) et 1 cas de tuberculides papulo-nécrotiques (10 %).

-notre étude : l'aspect gommeux retrouvé dans 52,2 % [représenté par 19 scrofulodermes (41,3 %) et par 5 gomes (10,9 %)], 1 tuberculose ulcéreuse orificielle (2,2 %), lupus tuberculeux (21,7 %), 6 tuberculoses verruqueuses (13,0 %), 3 érythèmes indurés de Bazin (6,5 %), 1 cas de tuberculides papulo-nodulaires faciales (2,2 %) et 1 érythème noueux (2,2 %) (Figure 61).

Tableau XXX. Comparaison entre la fréquence des différentes formes cliniques.

Formes cliniques	Notre Etude		Etude mexicaine (Solis)		Etude chinoise (Ho)		Etude indienne (Padmavathy)		Etude indienne (Arora)		Etude de Singapour	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Scrofulodermes	19	41,3	42	64,6	0	0	6	24	3	30	14 FMB	
Gomes	5	10,9	-	-	0	0	-	-	-	-		
Tbc orificielle	1	2,2	0	0	2	1	0	0	0	0		
LV	10	21,7	12	18,5	6	4	8	32	2	20	5	-
Tbc verruqueuse	6	13,0	6	9,2	6	4	9	36	3	30	38	-
EIB	3	6,5	0	0	127	86	1	4	1	10	26	-
Tuberculides....	1 PNF	2,2	5 PN	7,7	4 PN	3	1 LS	4	1 PN	10	-	-
EN	1	2,2	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
Indéterminée	0	0	-	-	2	1	0	0	0	0	-	-
Total	46	100	65	100	147	100	25	100	10	100	-	-

Abréviations : tbc : tuberculose, LV : lupus vulgaire, EIB : érythème induré de Bazin, EN: érythème noueux, N : nombre, % : pourcentage, PNF : papulo-nodulaires faciales, PN :papulo-nécrotiques, LP :lichen scrofulosorum.

Le siège des lésions cutanées (Tableau XXXI) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis) : la face atteinte dans 7 cas (10,7 %), le cou dans 27 cas (41,5 %), le tronc dans 20 cas (30,7 %) et des localisations cutanées multiples retrouvées dans 11 cas (16,9 %).

- l'étude chinoise (C.K.Ho) : la face touchée dans 7 cas (4,7 %), les membres dans 4 cas (2,7 %), uniquement les membres inférieurs dans 133 cas (90 %), les extrémités (les pouces) dans 2 cas (1,4 %) et les fesses dans 1 cas (0,7 %).

- notre étude : la face est atteinte chez 7 malades (15,2 %), le cou touché dans 13 cas (28,2 %), le tronc dans 7 cas (15,2 %), les membres inférieurs dans 7 cas (15,2 %), les membres supérieurs dans 2 cas (4,3 %), les extrémités (mains ou pieds) dans 4 cas (8,2 %), les fesses dans 2 cas (4,3 %), la région péri-anale dans 1 cas (2,2 %) et 3 cas (6,5 %) de localisations cutanées multiples.

Tableau XXXI. Comparaison du siège des lésions avec celui de l'étude mexicaine et de l'étude chinoise.

Localisations des lésions	Notre étude		Etude mexicaine (A.H.Solis)		Chinoise (C.K. Ho)	
	N	%	N	%	N	%
Face	7	15,2	7	10,7	7	4,7
Cou	13	28,2	27	41,5	-	-
Tronc	7	15,2	20	30,7	-	-
Membres inférieurs	7	15,2	-	-	133	90
Membres supérieurs	2	4,3	-	-	-	-
Membres	-	-	-	-	4	2,7
Extrémités (mains ou pieds)	4	8,7	-	-	2	1,4
Région péri-anale	1	2,2	-	-	-	-
Fesses	2	4,3	-	-	1	0,7
Localisations multiples	3	6,5	11	16,9	-	-

Clicours.COM

Les atteintes extra-cutanées associées (Tableau XXXII) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis) : sont retrouvées l'atteinte pulmonaire chez 6 patients (9,2 %), la localisation ganglionnaire dans 4 cas (6,1 %) et la miliaire dans un cas (1,5 %).

- l'étude chinoise (C.K.Ho): la localisation pulmonaire recensée chez 9 malades (6,1 %), l'atteinte ganglionnaire chez 2 patients (1,3 %) et la tuberculose urinaire dans 1 cas (0,6 %).

- notre étude: sont rencontrées l'atteinte pulmonaire dans 5 cas (10,8 %), la localisation ganglionnaire dans 3 cas (6,5 %), la localisation osseuse dans 5 cas (10,8 %), l'atteinte pleurale (pleurésie) dans 3 cas (6,5 %), l'atteinte péritonéale (ascite) dans 2 cas (4,3 %), une mastite tuberculeuse dans 1 cas (2,1 %) et une atteinte intestinale dans 1 cas (2,1 %).

Tableau XXXII. Comparaison des atteintes extra-cutanées associées.

Atteintes extra-cutanées	Notre étude		Etude mexicaine (A.H. Solis)		Etude chinoise (C.K. Ho)	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Pulmonaire	5	10,8	6	9,2	9	6,1
Ganglionnaire	3	6,5	4	6,1	2	1,3
Miliaire	0	0	1	1,5	0	0
Osseuse	5	10,8	-	-	-	-
Pleurale	3	6,5	-	-	-	-
Péritonéale	2	4,3	-	-	-	-
Urinaire	0	0	-	-	1	0,6
Sein	1	2,1	-	-	-	-
Intestinale	1	2,1	-	-	-	-

Abréviation : % : pourcentage.

Histologie concluante (Tableau XXXIII) :

- a représenté un critère d'inclusion des cas étudiés de tuberculose cutanée dans les séries mexicaine, chinoise et indienne (L.Padmavathy). Donc l'aspect anathomopathologique est en faveur du diagnostic de la tuberculose dans tous les cas répertoriés par ces études.

- dans l'autre série indienne (S.K.Arora) l'aspect granulomateux relevé chez deux malades sur 10 (20 %).

- dans notre étude, l'histologie a été concluante chez 39 patients sur les 46 (84,9 %).

Tableau XXXIII. Comparaison des résultats de notre série et des performances de la PCR en fonction des formes cliniques avec les autres études.

	Notre étude	Etude mexicaine (A.H. Solis)	Etude chinoise (C.K. Ho)	Etude de Singapour (S.H.Tan)	Etude indienne (L.Padmavathy)	L'étude indienne (S.K. Arora)
Durée de l'étude	3ans et 3mois (Janvier 2010-Avril 2013)	2 ans (Janvier 2008-Janvier 2010)	10 ans (1993-2002)	-	-	-
Type d'étude	Prospective	Prospective	Rétrospective	Rétrospective	Rétrospective	Prospective
Références	Culture	Histologie Témoins	Histologie	Culture	Histologie	Témoins
Nombre malades ou de spécimens	46 cas	65 cas	147 cas	105 cas 119 spécimens	25 cas 25 spécimens	10 cas 10 spécimens
Type d'échantillon	Cutanés –pus	Cutanés	Cutanés	Cutanés	Cutanés	Cutanés
Formes cliniques	19 SFD 5 gommes 1 TO 10 LV 6 TV 3 EIB 1TF 1 EN	42 SFD 12 LV 6 TV 5 TPN	2TO 6 LV 6 TV 127 EIB 4 TPN 2 indéterminées	14 FMB 5 LV 38 TV 26 EIB	6 SFD 8 LV 9 TV 1EIB 1LS	3 SFD 2 LV 3 TV 1EIB 1TPN
Positivité IDRT(%)	86,9	26	-	-	-	-
Histologie concluante(%)	84,9 (39/46)	100	100	-	100	20 (2/10)
Type de PCR	Xpert MTB/RIF	Classique	Classique	Classique	Classique	Classique
Sensibilité globale de la PCR (%)	71,5	74	50 (5/10)	73	64	100 (6/1) PR culture 60 PR témoins
Spécificité de la PCR (%)	100	91	-	100 (FMB)	-	-
VPP (%)	100	94	-	-	-	-
VPN (%)	88,9	64	-	-	-	-
Sensibilité de la culture (%)	30,4 (14/46)	Milieu de L-J: 6 Bactec:14	10,6 (5/47)	FMB: 64,2 (9/14)	0	10 (1/10)
Sensibilité de la microscopie (%)		14	-	-	0	10 (1/10)

Abréviations : F : femmes, H : hommes, EA : extrêmes d'âge, ÂM : âge moyen, SFD : scrofulodermes, LV : lupus vulgaire, TO : tuberculose orificielle, TV : tuberculose verruqueuse, EIB : érythème induré de Bazin, EN : érythème noueux, TF: tuberculides papuleuses de la face, TPN: tuberculides papulo-nécrotiques, LS : lichen scrofulosorum , FMB : formes multibacillaires, L-J : Löwenstein-Jensen, PR : par rapport.

L'examen direct :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis) : la méthode de Ziehl-Neelsen a été positive chez 9 cas (13,8%) avec une sensibilité de 14 %.

- l'étude indienne (L.Padmavathy) : l'examen direct (méthodes de coloration) a été pratiqué et a été négatif dans tous les échantillons.

- l'étude indienne (S.K.Arora) : l'examen direct a été positif dans un cas sur 10 (10 %).

- dans notre étude il a été pratiqué chez 10 malades en ambulatoire (dans des laboratoires privés) et s'est révélé positif chez 9 patients (résultats non fiables et non exploitables car ils n'ont pas été tous effectués dans des laboratoires de référence).

La culture (Tableau XXXIV et Tableau XXXV) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis): parmi les 65 cas étudiés, 9 se sont révélés positifs (13,8 %) à la culture sur un milieu liquide BACTEC™ MGIT™ 960, avec une sensibilité de 14 %. A la culture sur le milieu solide de Lowenstein-Jensen, 4 cas (6,15 %) ont été positifs avec une sensibilité de 6 %.

Ces cultures n'ont été positives que dans les cas de tuberculose cutanée vraie (scrofulodermes, lupus tuberculeux et tuberculose verruqueuse), avec un taux de positivité à 15 % (9/60) sur le milieu liquide et à 6,6 % (4/60) sur le milieu solide.

- l'étude chinoise (C.K.Ho) : d'une façon globale elle a été positive dans 5 cas sur 47 (10,6 %).

Chez les cas de tuberculose cutanée vraie, la culture n'a été pratiquée que chez 13 malades et s'est révélée positive dans 5 cas (38 %). Alors que dans les formes réactionnelles, elle a été effectuée chez 34 patients, et revenue négative dans tous ces cas.

- l'étude indienne (L.Padmavathy) : toutes les cultures ont été négatives.

- l'étude indienne (S.K.Arora) : la culture a été positive chez 1 cas de scrofuloderme sur 10 (10 %).

Cet aspect positif de la culture n'a été rencontré que dans les formes de tuberculose cutanée vraie avec un taux à 12,5 % (1/8). Dans les formes réactionnelles, elle a été négative.

-notre étude : d'une façon globale la culture sur le milieu solide s'est révélée positive chez 14 cas sur 46 (30,4 %).

Dans les formes multibacillaires, la culture est positive dans 48 % des cas (12 /25) et dans les formes paucibacillaires dans 9,5 % des cas (2/21).

Si on sépare les cas de tuberculose cutanée vraie des formes réactionnelles, selon l'autre classification (Tableau VIII), la culture ne s'est avérée positive que dans le 1^{er} lot. Le taux de positivité est représenté par 14 malades positifs sur 41 (34 %). Dans les formes réactionnelles (érythème induré de Bazin, tuberculides...), elle est négative.

Tableau XXXIV. Etude comparative du taux de positivité de la culture selon la classification qui sépare les formes multibacillaires des formes paucibacillaires (selon la charge bactérienne).

Culture	Notre étude	Etude mexicaine (A.H.Solis)	Etude chinoise (C.K.Ho)	Etude indienne (L.Padmavathy)	Etude indienne (S.K.Arora)
Résultat global % (+/N)	30,4 (14/46)	L-J : 6,1 (4/65) Bactec : 13,8 (9+/65)	10,6 (5/47)	0	10 (1/10)
FMB % (+/N)	48 (12/25)	L-J : 7,1 (3/42) Bactec : 11,9 (5/42)	-	0	33,3 (1/3)
FPB % (+/N)	9,5 (2/21)	L-J : 4,3 (1/23) Bactec : 17,3 (4/23)	-	0	0

Abréviations : FMB : formes multibacillaires, L-J : Löwenstein-Jensen, (+/N) : nombre de cas positif sur l'effectif.

Tableau XXXV. Etude comparative du taux de positivité de la culture selon la classification qui distingue les formes de tuberculose cutanée vraie des formes réactionnelles.

Culture	Notre étude	Etude mexicaine (A.H.Solis)	Etude chinoise (C.K.Ho)	Etude indienne (L.Padmavathy)	Etude indienne (S.K.Arora)
Résultat global % (+/N)	30,4 (14/46)	L-J : 6,1 (4/65) Bactec : 13,8 (9/65)	10,6 (5/47)	0	10 (1/10)
TCV % (+/N)	34 (14/41)	L-J : 6,6 (4/60) Bactec : 15 (9/60)	38 (5/13)	0	12,5 (1/8)
FR % (+/N)	0	0	0	0	0

Abréviations : TCV : tuberculoses cutanées vraies, FR : formes réactionnelles, L-J : Löwenstein-Jensen, (+/N) : nombre de cas positif sur l'effectif.

Type de PCR pratiquée (Tableau XXXIII) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis) : classique.
- l'étude chinoise (C.K.Ho) : classique et n'a été pratiquée que dans 7 cas de tuberculose vraie et dans 3 cas d'érythème induré de Bazin.
- l'étude de Singapour (S.H.Tan) : classique
- les études indiennes (L.Padmavathy et Arora): classique.
- notre étude : Xpert® MTB/RIF.

Sensibilité globale de la PCR (Tableau XXXIII) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis): 74 % par rapport aux témoins.
- l'étude chinoise (C.K.Ho): la sensibilité globale de la PCR est de 50 % (5 PCR positives /10 pratiquées). Par rapport à la culture elle estimée à 100 % (5/5).
- l'étude de Singapour (S.H.Tan) : 73 % par rapport à la culture.
- l'étude indienne (L.Padmavathy) : 64 % par rapport à l'histologie.
- l'étude indienne (S.K.Arora) : 60 % par rapport à des témoins.
- notre étude : 71,5 % par rapport à la culture et à 20,5 % par rapport à l'histologie.

Le taux de positivité de la PCR selon les cas de tuberculose cutanée vraie ou de formes réactionnelles (Tableau XXXVI) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis) : dans les cas de tuberculose vraie, la PCR a été positive dans 76,6 % (46/60) et dans les formes réactionnelles dans 40 % (2/5).
- l'étude chinoise (C.K.Ho) : estimé à 71 % dans les tuberculoses cutanées vraies (5 positives sur 7 pratiquées chez les cas de tuberculose vraie), dans les 3 cas d'érythème induré de Bazin, la PCR a été négative.
- l'étude de Singapour (S.H.Tan) : la sensibilité de la PCR dans les cas de tuberculose cutanée vraie tels que les formes multibacillaires estimée à 100 %. Le taux de positivité dans les cas de tuberculose verruqueuse a été évalué à 55 % et dans les cas de lupus tuberculeux à 60 % (nombre des malades non précisé). Dans les formes réactionnelles représentées par les cas d'érythème induré de Bazin, la PCR a été positive dans 54 %.
- l'étude indienne (L.Padmavathy) : le taux de positivité de la PCR dans les formes de tuberculose cutanée vraie a été estimé à 60,8 % (14/23) et à 100 % dans les formes réactionnelles (1cas d'érythème induré de Bazin et 1 cas de lichen scrofulosorum).

- l'étude indienne (S.K.Arora) : pour les cas de tuberculose cutanée vraie la PCR a été positive dans 62,5 % (5/8) et a été négative dans les formes réactionnelles (érythème induré de Bazin et tuberculides papulonécrotiques).

- notre étude : le taux de positivité de la PCR est de 24,4 % (10/41) dans les cas de tuberculose vraie et s'est révélé négatif dans toutes les formes de tuberculose réactionnelle.

Tableau XXXVI. Etude comparative du taux de positivité de la PCR selon les formes de tuberculose cutanée vraie et les formes réactionnelles.

PCR	Notre étude	Etude mexicaine (A.H.Solis)	Etude chinoise (C.K.Ho)	Etude indienne (L.Padmavathy)	Etude indienne (S.K.Arora)	Etude deSingapour (S.H. Tan)
Résultat global (%)	21,7 (10/46)	73,8 (48/65)	50 (5/10)	64 (16/25)	60 (6/10)	-
TCV(%)	24,4 (10/41)	76,6 (46/60)	71 (5/7)	60,8 (14/23)	62,5 (5/8)	FMB 9 LV 60 TV 55
FR (%)	0	40 (2/5)	0	100 (2/2)	0	54

Abréviations : TCV : tuberculoses cutanées vraies, FR : formes réactionnelles, L-J : Löwenstein-Jensen, LV : lupus vulgaire, TV : tuberculose verruqueuse, FMB : formes multibacillaires.

Spécificité de la PCR (Tableaux XXIX et XXXIII) :

- l'étude mexicaine (A.H.Solis) : évaluée à 91 %.
- l'étude de Singapour (S.H.Tan) : estimée à 100% pour les formes multibacillaires.
- notre étude : estimée à 100 %.

Le traitement et la réponse thérapeutique (Tableau XIX) [98,183-185] :

La réponse thérapeutique a été favorable chez tous les patients dans l'étude mexicaine et les 2 études indiennes de Padmavathy et d'Arora. Le protocole thérapeutique n'a pas été précisé dans ces séries.

Dans la série chinoise, la majorité des malades qui ont pu être traités ont reçu une trithérapie (rifampicine, isoniazide et pyrazinamide) de durée variable entre 6 et 13 mois. L'évolution a été favorable sauf chez 16 cas d'érythème induré sur 127 (12,5 %) qui ont présenté une rechute.

Dans notre étude le protocole instauré 2RHZ/4RH chez 34 malades (74 %), le 2RHZE/4RH chez 6 malades (13 %), le 2RHZE/10RH chez 2 malades (4,3 %) et d'autres produits (sulfones, aminosides...) chez 4 patients (8,4 %) (Tableau XVIII).. La réponse thérapeutique a été favorable dans 82,6 %. Le reste est représenté par une absence de réponse chez un malade (2,2 %), une rechute chez 2 patients (4,4 %) et une évolution indéterminée chez 5 patients (10,8 %) (Figure 68).

La comparaison

La fréquence annuelle des malades (Tableau XXVIII) :

Quand la durée de l'étude a pu être précisée comme le cas de l'étude chinoise et mexicaine. La fréquence des malades par an dans notre étude a été évaluée à 14,3 malades et dans la série chinoise à 14,7 patients par an. Par contre, dans la série mexicaine, elle a été estimée à 32,5 cas par an. Il a été remarqué que dans notre série, cette fréquence a été proche de celle de l'étude chinoise.

Sexe (Tableau XXIX) :

Pour le sexe nous avons eu une prédominance masculine avec un sexe ratio de 1,5, contrairement aux 2 études mexicaine et chinoise où une prédominance féminine a été notée avec un sexe ratio respectivement de 0,2 et de 0,3.

Quant à l'âge (Tableau XXIX) :

Les extrêmes d'âge ont été presque semblables. La limite inférieure a été plus basse dans notre étude (estimée à 8 ans), alors que dans les séries mexicaine et chinoise cette limite se rapproche (respectivement 15 et 13 ans). La moyenne d'âge dans l'étude chinoise a été légèrement plus élevée (46,8 ans) par rapport à celle retrouvée dans notre étude (37,6 ans). Par contre elle n'a pas été précisée dans l'étude mexicaine. D'une façon générale la tranche d'âge la plus touchée a été celle de l'adulte jeune au niveau des trois série.

Sujets immunodéprimés (Tableau XXIX) :

Les études indiennes (Padmavathy), chinoise et mexicaine n'ont inclus aucun patient VIH positif. L'étude de Singapour a répertorié 14 patients immunodéprimés et dans notre série un cas de sida maladie a été relevé.

La notion de contagement tuberculeux (Tableau XXVIII) :

La notion de contagement tuberculeux est plus fréquente dans notre étude. Elle est retrouvée dans 11 cas sur les 46 (23,9 %). Par contre, elle a été rapportée dans l'étude chinoise (C.K. Ho), dans laquelle elle a représenté les 2,7 % (4/147 malades). Dans les autres études, la notion de contagement tuberculeux n'a pas été précisée.

Les antécédents personnels de tuberculose (Tableau XXVIII) :

Dans notre étude aucun antécédent personnel de tuberculose n'a été révélé par les patients. Par contre, une histoire de tuberculose a été rapportée par 4 malades (6 %) dans l'étude mexicaine (A.H. Solis) et par 5 (3,4 %) dans l'étude chinoise (C.K. Ho).

Formes cliniques rencontrées (Tableau XXX) :

Parmi les formes cliniques, la prédominance de l'aspect gommeux a été retrouvée au niveau des deux études la notre (52,2 %) et celle du Mexique (64,4 %), de même que le lupus tuberculeux a été fréquent et a occupé la deuxième position au niveau de ces 2 séries, ce qui rejoint les données de la littérature [3,5,71,73-75,77,83-85,88,89,219].

Au niveau des autres études, c'est la tuberculose verruqueuse qui a occupé la 1^{ère} place, à savoir dans les séries de Singapour (38 cas), d'Arora (30 %) au même titre que la tuberculose gommeuse (scrofuloderme), et de Padmavathy (36 %).

Dans la série chinoise, l'aspect prédominant a été celui de l'érythème induré de Bazin (86 %). Les cas de scrofuloderme et de lichen scrofulosorum ont été absents au niveau de cette série.

Le siège des lésions cutanées (Tableau XXXI) :

La localisation cervicale a été la plus fréquente (28,2 %) dans notre série, ce qui est corrélé avec l'étude mexicaine où elle a été estimée à 41,5 %. Le tronc et le visage n'ont pas été épargnés, et les membres sont moins touchés dans ces 2 séries. L'étude chinoise a montré une atteinte plus fréquente des membres inférieurs (90 %).

Les atteintes extra-cutanées associées (Tableau XXXII) :

L'association avec un foyer pulmonaire a été la plus fréquemment retrouvée au niveau des 3 études : mexicaine (9,2 %), chinoise (6,1 %) et la notre (10,8 %). Au niveau des deux premières, la localisation ganglionnaire a été classée par ordre de fréquence en deuxième position (respectivement 6,1 % et 1,3 %). Au niveau de notre étude, les localisations osseuse et pulmonaire ont été de fréquence égale (10,8 %), tout en occupant la première place. Par la suite, viennent l'atteinte ganglionnaire (6,5 %) et pleurale (6,5 %).

L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDRT) (Tableaux XXIX et XXXIII) :

Dans l'étude mexicaine, l'IDRT s'est révélée positive chez 17 patients (26 %). Dans notre série, son taux de positivité a été plus élevé. Elle a été positive chez 40 cas sur les 46 patients (86,9 %).

Dans l'étude chinoise, elle a été rarement pratiquée car jugée ininterprétable chez les malades vaccinés par le BCG.

L'histologie (Tableau XXXIII) :

L'aspect histologique a été compatible avec la tuberculose cutanée dans tous les cas, dans les séries mexicaine, chinoise et indienne de Padmavathy, où il compte parmi les critères d'inclusion. Dans la série indienne d'Arora, 2 aspects granulomateux ont été retrouvés (20 %). Dans notre étude, l'aspect anatomopathologique a été concluant chez 39 malades (84,9 %).

La culture (Tableau XXXV) :

Les résultats de la culture avoisinent ceux de l'étude chinoise pour les cas de tuberculose cutanée vraie (dans notre série, ils ont été estimés à 34 % et dans la série chinoise à 38 %).

Pour les études mexicaine et indienne d'Arora, ce taux de positivité est inférieur et évalué respectivement à 15 % sur un milieu liquide et à 6,6 % sur un milieu solide dans la série mexicaine, et à 12,5 % dans celle d'Arora. Pour les formes réactionnelles, la culture a été négative dans toutes ces études, ce qui est corrélé avec nos résultats.

Dans l'autre série indienne de Padmavathy, la culture a été négative chez tous les malades.

Le type de PCR utilisé (Tableau XXXVI) :

Pour les autres études rapportées, il a été procédé à une PCR de type classique. Pour effectuer notre travail, nous avons eu recours à la technique Xpert® MTB/RIF.

La sensibilité globale de la PCR dans notre étude (71,5 %) a été comparable avec celle du Mexique (74 %) et celle de Singapour (73 %). Elle a été plus élevée que celle des études indiennes (de Padmavathy estimée à 64 % et d'Arora à 60 %). Dans la série chinoise, elle a été évaluée à 50 % (5/10) et par rapport à la culture à 100 % (5/5).

La spécificité a été légèrement plus élevée au niveau de notre série (100 %) par rapport à la série mexicaine (91 %).

Le traitement et la réponse thérapeutique (Tableau XIX) [98,183-185]:

La réponse thérapeutique a été favorable à 100 % dans l'étude mexicaine et les 2 séries indiennes de Padmavathy et d'Arora. Dans l'étude chinoise, 16 cas de rechute (12,5 %) ont été rapportés parmi les 127 malades atteints d'érythème induré de Bazin. Dans notre série, les malades ont répondu au traitement dans 82,6 %. Une réponse défavorable (absence de réponse ou rechute) a été mentionnée chez 3 patients (6,6 %), et l'évolution n'a pas été précisée chez 5 malades (10,8 %) (Figure 68).

IV.2. CONCLUSION

Dans le diagnostic de la tuberculose cutanée, la PCR n'est pas un examen obligatoire d'emblée. D'autant plus que son coût élevé ne nous incite pas à la demander dès le départ.

Ce n'est pas un examen supérieur aux autres tels que la culture, la cytologie, et l'histologie. Le seul avantage est la rapidité des résultats.

Parmi les moyens de diagnostic, les cultures ont une sensibilité plus élevée et peuvent détecter peu de bacilles (10 à 100 /ml) [144,147] (Figure 21). Le seul inconvénient est le retard de 3 à 6 semaines nécessaire pour l'obtention de colonies [142,183]. En matière de tuberculose cutanée, la PCR se montre moins performante que dans la tuberculose pulmonaire [144,220].

Cependant, elle ne paraît pas inutile, et on peut l'associer à d'autres moyens d'investigation pour avoir un panel suffisant pour le diagnostic.

Bien que spécifique, la PCR n'a pas été jugée utile à la contribution au diagnostic clinique et histologique des formes pauci-bacillaires de tuberculose cutanée dans l'expérience de nombreux auteurs, vu que sa sensibilité reste discutable et semble moindre par rapport à celle de la culture [184].

En ce sens, il a été démontré que la PCR avait une valeur limitée dans le diagnostic de la tuberculose paucibacillaire et qu'un résultat négatif n'élimine pas une tuberculose. Ainsi Tan et al avaient envisagé une sensibilité globale de 73 % (en comparaison avec la culture) avec un taux de positivité de 55 % pour la tuberculose verruqueuse et 60 % pour le lupus tuberculeux [184,221].

Arora a estimé un taux de positivité de la PCR à 60 % chez 10 patients présentant une tuberculose cutanée par rapport à un groupe témoin [185].

Padmavathy et al ont observé chez 25 patients atteints de différents types de tuberculose cutanée, une positivité globale de 64 % avec un taux de 75 % dans les cas de lupus vulgaire, de 62,2 % dans les cas de tuberculose verruqueuse et de 50 % dans les cas de scrofuloderme [184].

La sensibilité inadéquate de la PCR peut conduire à des résultats faussement positifs dus à la présence de contaminants [184].

La PCR est incapable de différencier entre les bacilles vivants et morts qui sont susceptibles de persister chez les cas traités. Donc elle ne constitue pas un moyen de suivi de l'évolution et du contrôle de la réponse thérapeutique [184].

De nombreuses études concernant l'utilité de la PCR dans le diagnostic de la tuberculose cutanée ont été rapportées dans la littérature, au cours desquelles l'effectif des échantillons ou des cas n'a pas été suffisant pour considérer la technique de la PCR comme un outil de diagnostic de routine pour cette affection [183-186].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]-A. **AMMAR KHODJA**. Tuberculoses cutanées. 22^{ème} Congrès International de l'ADF 1999 Beyrouth (Liban).
- [2]-L. **CHENGUEL, C. BELADJOUZA, A. AOUNALLAH, S. SAID, N. GHARIANI, M. DENGUEZLI, R. NOUIRA**. Tuberculose cutanée (53 cas). *Ann dermatol vénéréo JDP* 2007 ; **134** ; p : 7S153.
- [3]-B. **DAHMANI, A. LACHACHI, O. BOUDGHENE STAMBOULI**. A propos de 42 cas. Expérience du service de Dermatologie du CHU de Tlemcen. 19^{ème} congrès Maghrébin de Dermatologie 2007 Rabat (Maroc).
- [4]-B. **HASSAM, K. SENOUCI, F. BENNOUNA-BIAZ, B. LAZRAK**. Profil épidémiologique des tuberculoses cutanées colligées au service de Dermatologie d'Avicenne, Rabat (1985-1990). *Médecine du Maghreb* 1991 ; (27):9-10.
- [5]-T. **TILMATINE, N. HAMEURELAINE, N. MAHMOUDI, A. BOUMEHDI, A. CHIALI, A. SERRADJ, A. KHELIL**. Profil épidémiologique de la tuberculose cutanée au CHU d'Oran (198 cas). 27^{ème} Congrès International de l'ADF 2009 Alger (Algérie).
- [6]-B. **CARBONELLE, M. DAILLOUX, L. LEBRUN, J. MAUGEIN**. Mycobactéries – Mycobactérioses. Cahier de Formation – *Biologie médicale* 2003 ; (29). Formation continue des biologistes. Bioform.
- [7]-F. **TIGOULET, V. FOURNIER et E. CAUMES**. Formes cliniques de la tuberculose cutanée. *Bull. Soc.Pathol. Exotiques* 2003 ; **96** ; 5 ; 362-367.
- [8]-J.J. **MORAND, E. LIGHTBURN**. La tuberculose cutanée. *Encyclo méd chirur Dermatol* 2007 ; 98-360-A-10.
- [9]-**(WO/2007/034118)**. Procédé de détection, dans un échantillon biologique de mycobactéries, en particulier de mycobactéries, et en particulier de mycobactéries caractéristique de la tuberculose.
- [10]-O.B. **STAMBOULI**. La tuberculose cutanée. toujours un problème d'actualité et de santé publique en Algérie. *Bull Soc Pathol Exot* 2013 ; **106** :334-359.
- [11]-G. **DESPIERRES. (1981)**. Histoire de la tuberculose. In : Conférences d'histoire de la médecine, cycle 1980-81, Institut d'histoire de la médecine (EDS) Université C Claude Bernard, Lyon, collection Fondation Mérieux, 3-24.

- [12]-J. FRENEY, W. HANSEN. Histoire de la bactériologie. Histoire de la tuberculose, de son diagnostic et de son traitement. *Lyon Pharm* 1997 ; 48, 5 : 240-261.
- [13]-S. DJELOUAT. La tuberculose et *Mycobacterium tuberculosis*. Knol. Collection Bactériologie Médicale et systématique bactérienne.
- [14]-M. MACZEL. « Sur les traces de la tuberculose » critères diagnostiques des atteintes tuberculeuses du squelette humain et leur application dans des séries anthropologiques hongroises et françaises. Thèse d'université en Anthropologie biologique 2003-154 pages. Université d'Aix- Marseille II.
- [15]-C. VINCENT. La tuberculose canine à *Mycobacterium tuberculosis*. Thèse de doctorat en vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Lyon 2002.
- [16]-Y. MOREAU, J.F. SALUZZO. La tuberculose quelques points d'histoire. Musées de sciences biologiques docteur Mérieux.
- [17]-P. ROHNER. Laboratoire central de Bactériologie. Division des maladies infectieuses. Hôpitaux universitaires de Genève : Identifications des bactéries difficiles. Acorata suisse, dernière révision faite le 10 Juin 2005.
- [18]-H. EL GHRADI. Les promoteurs de l'esprit scientifique dans la civilisation islamique, *Publications de l'Organisation islamique pour l'éducation, les sciences et la culture* 2003.
- [19]-B. RUSSELL. The History of Lupus Vulgaris : Its recognition, Nature, Treatment and Prevention. *Pro Royal Soc Med* 1955 ; 48: 127-132.
- [20]-G. TILLES. Dermatologie des XIX^{ème} et XX^{ème} siècles: Mutations et controverses 2011. Du lupus de willan au bacille de Koch : 63.
- [21]-V.M. YATES. Mycobacterial Infections. Rook's Textbook of Dermatology, 8th edition. Edited by T. Burns, S. Breathnach, N. Cox and C. Griffiths. Publication 2010 Wiley Blackwell chap. 31: 31.1-31.41.
- [22]-H.E. MICHELSON. The history of lupus vulgaris. *J Invest Dermatol* 1946; 7: 261 - 267.
- [23]-H.E. MICHELSON. Scrofuloderma gummusa (*tuberculosis colliquativa*); *Arch Dermatol Syph* 1924 ; 10 :565-578.
- [24]-J.A. SAVIN. Mycobacterial infections. In: Champion RH., Burton JL., Ebling FJG., eds. Textbook of dermatology. 5th edition Oxford : Blackwell Scientific Publications 1992 : 1033 - 1063.

- [25]-R. ANDRES, M.A. BALTZAN, G. CADER, K.L. ZIERLER. Obituary – Tilbury Fox M.D. *BMJ* (BMJ Group) 14 June 1879; 1 (93): 915 - 916.
- [26]-M.J. DARIER. Des “tuberculides” cutanées. *Ann Dermatol Syphilo* 1896; 7:1431-6.
- [27]-S.C. CHEN, H.Y. TAO and H.H. TSENG. Papulonecrotic tuberculid a rare skin manifestation in a patient with pulmonary tuberculosis. *J Formos Med Assoc* 2000;99(11):857-9.
- [28]-K.T. CHAN. Tuberculide - A Clinical and Epidemiological Review. *Hong Kong Dermatology and Venereology Bulletin* 2000;8(1):9-15.
- [29]-L.-M. PAUTRIER. Tuberculose nodulaire dermique à petits nodules. In: Darier J, ed. *Nouvelle Pratique Dermatologique Paris* 1936 Masson Editeur;3:619-30.
- [30]-B.E. BEYT , D.W. ORTBALS D, D.J. SANTA CRUZ, G.S. KOBAYASHI, A.Z. EISEN and G. MEDDOF. Cutaneous mycobacteriosis : analysis of 34 cases with a new classification of the disease. *Medicine* 1981;60:95-109.
- [31]-M. FABRE and F. AUGU. Historique des colorations. Copyright © 2006.
- [32]-D. TRYSTRAM (1996). Les cas de tuberculose à culture positive entre 1972 et 1995 à la Pitié-Salpêtrière. Thèse de médecine.
- [33]-M. FABRE and F. AUGU. Historique des antibiotiques. Copyright © 2006.
- [34]-M. CASTETS, N. RIST, H. BOISVERT. La Variété africaine du bacille tuberculeux humain. *Médecine d'Afrique Noire* 1969 ; 16 :321-322.
- [35]-C. LOCHT. Mécanismes moléculaires de la pathogénie bactérienne. Tuberculose. *INSERM Lille* 2012.
- [36]-A. KASSAH-LAOUAR. Laboratoire central de Microbiologie CHU-Faculté de Médecine de Batna (26 Mai 2009): Diagnostic au laboratoire d'une mycobactérie.
- [37]-P.M. ALZARI, unité de Biochimie Structurale et URA 2185 CNRS, Institut Pasteur, Paris, France. Génomique structurale des mycobactéries : 2.
- [38]-C. ROGE et LE CLAT 29. La tuberculose et le généraliste à Morlaix en 2012 : une vieille maladie (oubliée ?). Les nouveautés pour en finir avec <<la peste blanche>>.
- [39]-A. DECOSTER. Mycobactéries. FLM : 1 Classification des bactéries.

- [40]-J. GROSSET, H. BOISVERT, P.H. LAGRANGE, G. BARANTON. Les mycobactéries 1982.
- [41]-G. PANTEIX (2000). Mycobactéries autres que les mycobactéries de la tuberculose. In : Freney J., Renaud F., Hansen W., Bollet C. ; Précis de bactériologie clinique, éditions ESKA, 1692 pages, chap.54 :1056-1064.
- [42]-J.P. FLANDROIS (sous la direction de) (1997). Mycobacterium tuberculosis. In : Bactériologie médicale, ouvrage collectif de l'association des professeurs de bactériologie – virologie –hygiène hospitalière des facultés de médecine, presses universitaires de Lyon, Lyon collection Azay, 309 pages ; p : 152-157.
- [43]-COURS DES CHAIRES DES MALADIES CONTAGIEUSES (rédigé par Toma. B., mise à jour sous sa coordination) (2000) : tuberculose. Polycopié des écoles nationales vétérinaires françaises : les zoonoses infectieuses, 164 pages :107-108.
- [44]-G. PANTEIX (2000). Bacille de la tuberculose. In : Freney J., Renaud F., Hansen W., Bollet C. ; Précis de bactériologie clinique, éditions ESKA, 1692 pages, chap.53, 1041-1055.
- [45]-E. JAWATZ, J.L. MELNICK, E.A. ADELBERG. Les mycobactéries. Microbiologie médicale. Edit 1973. Librairie Maloine; chap. 17 :239-247.
- [46]-J. MARKOVITS, E. VSKAS, E. LEDERER. Sur la structure chimique des cires D, peptidoglycolipides macromoléculaires des souches humaines de *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur. J. Biochem.* 1971 ; **18**: 287-291.
- [47]-V. DRISS. Les éosinophiles : effecteurs de la réponse immunitaire innée anti-mycobactérienne. Thèse pour l'obtention de grade de doctorat en immunologie 2008. Université du droit et de la santé Lille 2.
- [48]-S. FAYE. Evaluation de nouveaux outils de diagnostic de la tuberculose bovine. Conditions d'utilisation d'un test de dosage d'IFN Gamma et d'un test PCR IS6110. Thèse pour l'obtention de grade de doctorat 2010. Spécialité : Science de la vie et santé. L'institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement.
- [49]-A. TANNE. Etude du rôle des homologues de DC- Sign dans le modèle murin d'infection par *Mycobacterium tuberculosis*. Thèse en vue de l'obtention du doctorat en immunologie 2009. Université Toulouse 111-Paul Sabatier.

- [50]-**C. PERRONNE.** Unité des maladies infectieuses et tropicales. Hôpital Universitaire Raymond Pointcaré. Faculté de Médecine, Paris Ile-de-France Ouest. Université de Versailles. St Quentin en Yvelines. Tuberculose 2006.
- [51]-**C.P. AUDIGIER.** Diagnostic bactériologique de tuberculose. Workshops tuberculosis molecular Cotonou (Bénin) janvier 2013.
- [52]-**G. KUBICA.** Centers for Disease Control and Prevention – National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention; Division of tuberculosis elimination. Public Health Image Library (PHIL) image n°4428; Departement of Health and Human Services Public Inquiries: (404) 639-3534 / (800) 311-3435.
- [53]-**M. DRANCOURT.** *Mycobacterium tuberculosis* : agent potentiel du bioterrorisme.
- [54]-**F. DENIS, M.-C. PLOY, C. MARTIN, E. BINGEN, R. QUENTIN.** Bactériologie médicale. Techniques usuelles. Elsevier Masson, 2007.
- [55]-**Microbiologie médicale. Société Française de Microbiologie 1997.** Mycobactéries. Chapitre 19 :99-109.
- [56]-**F. DENIS, C. PERRONNE.** *Mycobacterium tuberculosis* et mycobactéries atypiques 2004 Elsevier SAS ; chapitre 8: 140-160.
- [57]-**S.D. CHAPARAS.** L'immunité dans la tuberculose *Bulletin de l'OMS* 1982 ;**60**(6) :827-844.
- [58]-**B.N. PHAM, D. J. DAVID, A. MEYER, M. CECCHIN, F. PAGES, C. PERREVE.** Test de détection de la production d'interféron Gamma pour le diagnostic des infections tuberculeuses. Service évaluation des actes professionnels. Décembre 2006. Haute Autorité de Santé.
- [59]-**A.L. DE FRANCO, R.M. LOCKSLEY, M. ROBERTSON.** Immunité: La réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. Editions De Boeck.2007. Chapitre 9: 240-241.
- [60]-**Tuberculose.** Place de la vaccination dans la maîtrise de la maladie 2004. Approches moléculaires de la tuberculose ; chapitre 2 :25-39.
- [61]-**H. GOODARZI, J. TROWBRIDGE and R. L. GALLO.** Innate immunity: a cutaneous perspective. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2007 ; **33**:15–26.

- [62]-G. CARCELAIN. Nouveaux tests immunologiques pour le diagnostic de la tuberculose. 43^{ème} journées de formation des médecins de travail des établissements de santé 2007.
- [63]-T. YAGI, S. MAHAPATRA, K. MIKUSOVA, D.C. CRICK and P.J. BRENNAN. Polymerization of Mycobacterial Arabinogalactan and Ligation to Peptidoglycan. *The journal of Biological Chemistry* 2003, 278.
- [64]-L. GANDOLFI-DONADIO, C. GALLO-RODRIGUEZ, R.M. DE LEDERKRMER. Facile synthesis of α -D-Araf-(1 \rightarrow 5)-D-Galf, the linker unit of the arabinan to the galactan in *Mycobacterium tuberculosis*. *Revue canadienne de chimie*, 2006, 84(4): 486-491.
- [65]-L. ABEL, J.-L. CASANOVA. Génétique humaine de la tuberculose. *Bull. Acad. Natle Med.* 2010. Tome 194;(6) :943-952.
- [66]-A. WARNIER, M. SASPORTES, P. H. LAGRANGE. Granulysine : médiateur de l'immunité innée et de l'immunité acquise dans la tuberculose chez l'homme. *J pat bio* 2005; 53(8-9) :516-521.
- [67]-D. HEBENSTREIT, J. HOREJS-HOECK, and A. DUSCHL (2005). "JAK/STAT-dependent gene regulation by cytokines". *Drug News Perspect* 18 (4): 243–249.
- [68]-J.-L. CASANOVA. Tuberculose: découverte d'une molécule du système immunitaire essentielle à la lutte contre les mycobactéries. *CP Casanova Science* 3 août 2012 (145,3 ko).
- [69]-C. BENZA. Etapes historiques de l'immunologie de Jenner à nos jours. med@TICE. PCEM1. Année universitaire 2007-2008. Faculté de médecine de Grenoble (UJF).
- [70]-D. LABIE. Le génome des mycobactéries. Etude biologique et interprétation évolutive. *Erudit. M/S : Médecine Mars* 2003 ; 195(3): 275-277.
- [71]-M.C. FARINA, M.I. GEGUNDEZ, E. PIQUE, J. ESTEBAN, L. MARTIN et al. Cutaneous tuberculosis a clinical, histopathologic and bacteriologic study. *J. Acad. Dermatol.*, 1995, 33:433-440.
- [72]-J.F. GARCIA-RODRIGUEZ, B. MONTEAGUDO-SANCHEZ, A. MARINO-CALLEJO. Cutaneous tuberculosis : a 15-year descriptive study 2008. *Enferm Infecc Microbiol Clin*;26(4):205-11.

- [73]-**A.M. FERRARIS, A. MORRONE, F. VALENZANO.** La tuberculose cutanée: une expérience italienne. *Ann Dermatol vénéréol* 2007 ;**134** (sup1) :52-53.
- [74]-**V.M. YATES and L.P. ORMEROD.** Cutaneous tuberculosis in Black-burn district (U.K.): a 15-year prospective series, 1981-95. *Br J Dermatol*, 1997;**136**:483-489.
- [75]-**C. MORANT, P. MODIANO.** Tuberculose cutanée. In D. BESSIS, C.FRANCES, B. GUILLOT, J.J. GUILHOU, éditions de Dermatologie et Médecine : Manifestations métaboliques et toxiques, Springer -Verlag, France 2007;**2**: 27.1-27.8.
- [76]-**S. AKDENIZ, T. YILDIZ, G. ATES, A. ATAMAN, T. ÖZEKINCI, M. HARMAN.** Cutaneous tuberculosis in a region of southeast of Turkey. *J Turk Acad Dermatol* 2011;**5** (2): 1152a1:1-5.
- [77]-**B. KUMAR, R. RAI, I. KAUR, B. SAHOO, S. MURALIDHAR, B.D. RADOTRA.** Childhood cutaneous tuberculosis: A study over 25 years from northern India. *Int J Dermatol* 2001;**40**:26-32.
- [78]-**H. JERAJANI, S. SHINDE and R. DHURAT.** A study of cutaneous tuberculosis in Mumbai, India. *Ann Dermatol Vénéréol*, 2002, **129**; 1S539.
- [79]-**A.M. BHUTTO, A. SOLANGI, N.M. KHASKHELY, H. ARAKAKI, S. NONAKA.** Clinical and epidemiological observations of cutaneous tuberculosis in Larkana Pakistan. *Int J Dermatol* 2002;**41**(3):159-65.
- [80]-**K. WONG, K.P. LEE, S.F. CHIU** Tuberculosis of the skin in Hong Kong - A review of 160 cases. *Br J Dermatol* 1968;**80**:424-9.
- [81]-**L.Y. CHONG and K.K. LO.** Cutaneous tuberculosis in Hong Kong: a 10-year retrospective study. *Int J Dermatol*, 1995;**34**:26-29.
- [82]-**A.J. VISSER and T. HEYL.** Skin tuberculosis as seen at Ga-Ran-kuwa Hospital. *Clin Exp Dermatol*, 1993;**18**:507-515.
- [83]-**A. KANE, S.O. NIANG, M. CISSE, N. SY THIerno N, M. DIALLO, M.T. DIENG, B. NDIAYE.** Tuberculose cutanée à Dakar : A propos de 151 cas. *Mali médical* 2010 TOME XXV. Chap 14. (1):14-17.
- [84]-**A. MASMOUDI, H. TURKI, S. BOUDAYA , M. MSEDDEI , S. BOUASSIDA and A. ZAHAF.** Cutaneous tuberculosis in southern Tunisia (64 cases). *Ann Dermatol Vénéréol* 2002, **129**.1S541.

- [85]-K. HADJLAOUI, B. FAZZA, R. ZERMANI, F. ZEGLAOUI, N. EL FEKIH, S. BENJILANI, M.R. KAMOUN. La tuberculose cutanée : a propos de 38 cas. *Tunisie Médicale* 2006 ;**84**(9) :537-541.
- [86]-S. FENNICHE, S. BENJENNET, H. MARRAK, O. KHAYAT, M. ZGHAL, M. BEN AYAD, I. MOKHTAR. Tuberculose cutanée : aspects anatomocliniques et évolutifs (26 cas). *Ann dermatol vénéréo* 2003 ;**130** (11):1021-1024.
- [87]-M. DENGUEZLI, S. HAMDY, N. GHARIANI, F. FRIGUI, S. SAID, C. BELADJOUZA, R. NOUIRA. La tuberculose cutanée : profil épidémiologique d'une série de 33 cas. *JDP* 2006.
- [88]-K. ZOHAIR, N. AKHDARI, F. NEJJAM, T. OUAZZANI, H. LAKHDAR. Cutaneous tuberculosis in Morocco. *International Journal of Infectious Diseases* 2007;**11**:209-212.
- [89]-S. GALLOUJ, T.HARMOUCH, F.Z. KARKOS, H. BAYBAY, M. MEZIANE, M. SEKAL, B. AMARA, O. MIKOU, A. AMARTI, M.C. BENJELLOUN, F.Z. MERNISSI. Tuberculose cutanée : trente-six observations au Maroc. *Med Trop* 2011 ; **71** : 58-60.
- [90]-G. TAPPEINER, K.D. WOLFF. Tuberculosis and other mycobacterial infections. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K et al, eds. *Dermatology in General Medicine* 5th edition. New York: McGraw Hill, 1992: 2274-2292.
- [91]-A. FRANKEL, C. PENROSE, J. EMER. Cutaneous Tuberculosis. A Practical Case Report and Review for the Dermatologist. [Case report and literature review]. *J Clin Aesthetic Dermatol* 2009;**2**(10):19–27.
- [92]-J. BARBAGALLO, P. TAGER, R. INGLETON et al. Cutaneous tuberculosis. diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol* 2002;**3**(5):319-328.
- [93]-J.E. LAI-CHONG, A. PEREZ, V.TANG, et al. Cutaneous manifestations of tuberculosis. *Clin Exp Dermatol* 2007;**32**(4):461-466.
- [94]-B. M. G. D. YASARATNE, D. M. MADEGEDARA. Tuberculosis of the skin. *Journal of the Ceylon College of Physicians* 2010;**41**:83-88.
- [95]-F.G. BRAVO, E. GOTUZZO. Cutaneous tuberculosis. *Clin Dermatol* 2007; **25**(2): 173-180.
- [96]-J.W. STEGER and T.L. BARRETT. Cutaneous tuberculosis. *Military dermatology*:355-389.
- [97]-J. RULLAN , R.E. SEIJO-MONTES, A. VAILLANT and N. P. SANCHEZ.

- Cutaneous manifestations of pulmonary disease. *Atlas of Dermatology in Internal Medicine* 2012:17-30.
- [98]-**C.K. HO, M.H. HO, L.Y. CHONG.** Cutaneous tuberculosis in Hong Kong: an update. *Hong Kong Med J* 2006;**12**(4):272-7.
- [99]-**A.S. JANJUA, A. KHACHEMOUNE, S. GUILLEN.** Tuberculosis verrucosa cutis presenting as an annular hyperkeratotic plaque. Continuing medical education. *Cutis®* 2006;**78**:309-316.
- [100]-**C. ALIAGA OGLU, M. ATASOY, A.I. GÜLEC.** Tuberculosis verrucosa cutis. *Eur J Gen Med* 2009; **6**(4): 268-273.
- [101]-**N.M. DIAGNE GUEYE, A.R. NDIAYE, N.M. BAYE et al.** Tuberculose multifocale à localisation mammaire. *Bull Soc Pathol Exot* 2013 ; **106** :334-359.
- [102]-**M.S. MELTZER, A.C. NACY.** Cutaneous Tuberculosis. eMedicine Specialties Dermatology Mycobacterial Infections Updated: Jan 28, 2009.
- [103]-**P. NIAMBA, A. TRAORE, F. TRAORE-BARRO, L. ILBOUDO, M. BONKOUNGOU, G. DIATTO, P. K. OUOBA and O. GOMBRI-LOMPO.** Le lupus tuberculeux :une cause de mutilation centrofaciale à ne pas méconnaître. *Bull Soc Pathol Exot* 2006 ;**99**, 3,xxx- xxx :1-3.
- [104]-**D. LIPSKER.** Tuberculoses et mycobactérioses atypiques. In *Dermatologie et infections sexuellement transmissibles.* J.-H. SAURAT, J.-M. LACHAPELLE, D. LIPSKER, L. THOMAS. 5^{ème} édition. Edition Tsunami Masson :160-166.
- [105]-**J. MARCOVAL, O. SERVITJE, A. MORENO, A. JUCLA, J. PEYRI.** Lupus vulgaris. Clinical,histopathologic and bacteriologic study of10 cases. *J Am Acad Dermatol* 1992;**26**:404-7.
- [106]-**P.A. THOMAS, W. SHRAUT, H.C. KORTING, O. BRAUN-FALCO.** Papulonecrotic tuberculids and erythema induratum of Bazin in a patient with a history of tuberculosis: role of specific T cells. *Eur J Dermatol* 1993;**3**:97-101.
- [107]-**Y.H. CHUANG, T.T. KUO, C.M. WANG, C.N. WANG, W.R. WONG, H.L. CHAN.** Simultaneous occurrence of papulonecrotic tuberculide and erythema induratum and the identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol*1997;**137**:276-81.
- [108]-**A. MILLIGAN, K. CHEN, R. A. GRAHAM-BROWN.** Two tuberculids in one patient: a case report of papulonecrotic tuberculid and erythema induratum occurring together. *Clin Exp Dermatol* 1990;**15**:21-3.

- [109]-Y. KURAMOTO, S. AIBA, H. TAGAMI. Erythema induratum of Bazin as a type of tuberculid. *J Am Acad Dermatol* 1990;**22**:612-6.
- [110]-Y.M. PARK, J.K. HONG, S.H. CHO, B.K. CHO. Concomitant lichen scrofulosorum and erythema induratum. *J Am Acad Dermatol* 1998;**38**:841-3.
- [111]-A.I. OTTO, J. HARSING, I. HERJAVECZ, M. KISS and S. KARPATI. Scrofuloderma associated with granuloma annulare-like lichen scrofulosorum; *Acta Derm Venereol* 89 2009:640-642.
- [112]-P.T. KAO, M.Y. TU, S.H. TANG and H.K. MA. Tuberculosis of the breast with erythema nodosum: a case report . *Journal of Medical Case Reports* 2010, 4:124.
- [113]-J.W. SCHNEIDER, D.H. GEIGER , D.J. ROSSOUW , H.F. JORDAAN, T. VICTOR, P.D. VAN HELDEN. *Mycobacterium tuberculosis* DNA in erythema induratum of Bazin. *Lancet* 1993;**342**:747–748.
- [114]-A. YEN, P.L. RADY, R. CORTES-FRANCO, S. TYRING. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in erythema induratum of Bazin using polymerase chain reaction. *Arch Dermatol* 1997;**133**:532-3.
- [115]-E. BASELGA, N. MARGALL, M.A. BARNADAS, P. COLL, J.M. DE MORAGAS. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in lobular granulomatous panniculitis (erythema induratum - nodular vasculitis). *Arch Dermatol* 1997; **133**:457-62.
- [116]-T. VICTOR, H.F. JORDAAN, D.J.T. VAN NIEKERK, M. LOUW, A. JORDAAN, P.D. HELDEN. Papulonecrotic tuberculid: identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA by PCR. *Am J Dermatopathol* 1992;**14**(6) :491-495.
- [117]-E. QUIROS , A. BETTINARDI, A. QUIROS, G. PIE'DROLA, M.C. MAROTO. Detection of mycobacterial DNA in papulonecrotic tuberculid lesions by polymerase chain reaction. *J Clin Lab Anal* 2000;**14**:133-5.
- [118]-J. M. MASCARO, E. BASELGA. Erythema induratum of Bazin. *Dermatol Clin* 2008;**26**:439-445.
- [119]-E. BEN JAZIA, W. HACHFI, M.TRIMECH, S.HMISSA, C.H. JEDDI, A.OMEZZINE-LETAIF. Detection of mycobacterial tuberculosis DNA in lichen scrofulosorum. Cases letters ; *Journal of the American Academy of Dermatology* 2006;**55**(2):S 54-S 55.

- [120]-**M. DENGUEZLI** (Service de Dermatologie CHU Farhat Hached Sousse). Tuberculose cutanée. Cours de Dermatologie Tunisie.
- [121]-**L.J. LEOW, S. PINTENS, P.P. PIGOTT et al.** Erythema induratum : A hypersensitivity reaction to Mycobacterium tuberculosis. Reprinted from *Australia Family Physicians* 2006;**35**(7) :521-522.
- [122]-**P. GERÔME, M. FABRE, C. P. SOLER, R. LE VAGURESSE.** Apport du laboratoire au diagnostic bactériologique des complications suppuratives loco-régionales du BCG. *Service de biologie médicale.* Hôpital des Armées Percy, Clamant, France.
- [123]-**N.M. NAJEM, V.B. ZADEH, A.H. AL-ABDULRAZZAG, S.R. AL-OTAIBI, R.S. KADYAN and M. JONEJA.** Bacillus Calmette-Guérin vaccine-induced lupus vulgaris in a child. Letter to the editor. *Acta Dermatoven APA* 2009, **18**(4):195-197.
- [124]-**Manuel de la lutte antituberculeuse à l'usage des personnels médicaux 2011.** Programme national de Lutte Contre la Tuberculose. Direction de la prévention et Institut National de Santé Publique.
- [125]-**N. AIT KHALED, D. ENARSON.** Tuberculose. Manuel pour les étudiants en Médecine. OMS 1999.
- [126]-**E. BOTELHO-NEVERS.** Le Traitement médical de la tuberculose. *Source Evan W. Orenstein, et al.* Treatment outcomes among patients with multidrug-resistant tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 153–61.
- [127]-**M.A. BENNANI.** Diagnostic rapide de la tuberculose par réaction de polymérisation en chaîne « PCR ». Intérêt et perspectives cliniques. Thèse de doctorat en sciences médicales année 2007. Faculté de Médecine- Université d'Oran.
- [128]-**M. GRARE.** Intérêt du dosage de l'INF γ dans le diagnostic de l'infection tuberculeuse latente. Interne biologie médicale 6^{ème} semestre juin 2007.
- [129]-**A. PETIT.** Tests tuberculiques. Quoi de neuf en dermatologie clinique. *Ann dermatol vénéréo* 2012 ; tome 139 supp 5 :S180.
- [130]-**H.Y. KOH, L.K. TAY, S.M. PANG, B.H. ONG.** Changing the way we diagnose tuberculids with interferon gamma release assays. *Australasian J Dermatol* 2012;**55**:73-5.

- [131]-L. KAWAMURA, J.A. GRINSDALE, C.S. HO, J.A. JEREB. Interferon gamma release assays for prediction of tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2012;12:584-5.
- [132]-R. McNERNEY, M. MAEURER, I. ABUBAKAR, B. MARAIS, T.D. McHUGH, N. FORD et al. Tuberculosis diagnostics and biomarkers:needs, challenges, recent advances, and opportunities. *J Infect Dis* 2012;205:S147-58.
- [133]-F. GORMAND. Actualités de la tuberculose et son dépistage. Pneumologie-Groupement hospitalier Sud. Forum Médical Lyonnais 2012.
- [134]-P. DUBROUS, H. ALAOUI, B. N'DOUNGA MIKOLO, J.L. KOECK. Diagnostic biologique de la tuberculose dans les pays à faibles ressources : perspectives nouvelles. *Med Trop* 2009; 69 : 618-628.
- [135]-Tuberculose. Place de la vaccination dans la maîtrise de la maladie 2004. Outils de dépistage et de diagnostic ; chapitre 3 : 41-65.
- [136]-L. SLIM-SAIDI. Tuberculose : épidémiologie et méthodes de diagnostic classiques EPU Tuberculose. Laboratoire de microbiologie. Hôpital A. Mami de pneumologie, Ariana, Tunisie.
- [137]-V. CATTOIR. Diagnostic bactériologique. Cours de DCEM1. Faculté de Créteil. Vendredi 29 Septembre 2006. Amphi 3.
- [138]-V. CATTOIR. Identification moléculaire des mycobactéries et détection de la résistance aux antibiotiques. *Annales de Biologie Clinique Revue générale*. Juillet-Août 2004 ;62(4):405-413.
- [139]-C. DUPEYRON. Diagnostic biologique de la tuberculose. Développement et santé, n°190, 2008.
- [140]-Groupe 21 du **Bergey's manual** avec un genre unique. Mycobactéries genre Mycobacterium. Mise à jour le Mercredi 17 Avril 2002.
- [141]-M. DOSSO. Les mycobactéries : classification, méthodes d'identification classique et pathogénèse.
- [142]-S. GODREUIL, C. CARRIERE, E. JUMAS-BILAK, D. TERRU, H. MARCHANDIN. Diagnostic moléculaire des infections à mycobactéries. *La lettre du pneumologue* 2003;6(2) :71-78.
- [143]-N. VEZIRIS, V. JARLIER. Nouveaux outils de diagnostic de la tuberculose : la révolution n'est pas achevée. *Revue des Maladies Respiratoires. Elsevier Masson* 2004 ;21(5) :897-899.

- [144]-M. BLANIE, J. L. PELLEGRIN and J. MAUGEIN. Apport de la PCR dans le diagnostic des tuberculoses extrapulmonaires. *Médecine et maladies infectieuses* 2005;**35**:17-22.
- [145]-A. DE LAUZANNE. Tuberculose de l'enfant. Séminaire CPHG le 01 décembre 2012.
- [146]-J. BARBEN , C. BERGER, T. BODMER, J.-M. EGGER, G. MERLANI, P. HELBLING, J.-P. JANSSENS, D. NADAL, L. NICOD, A. TURK, B. VUKMIROVIC, J.-P. ZELLWEGER, S. ZIMMERLI. Manuel de la tuberculose 2011. Ligue pulmonaire suisse. Office fédéral de la santé publique.
- [147]-E. CAMBAU. Diagnostic et traitement des infections à mycobactéries-DUACAI 2013.
- [148]-W.R. JACOBS, Jr., G.F. HATFULL, and W. STURM. Reporter phages for drug susceptibility testing in *M. tuberculosis* in South Africa.
- [149]-C. REES and G. BOTSARIS. The Use of Phage for Detection, Antibiotic Sensitivity Testing and Enumeration. Chapitre 14: 294-306.
- [150]-Biologie et génétique moléculaires. *Encyclopédie médicale. Medix* cours de médecine 2003/2009.
- [151]-M. DELPECH. Les applications de la PCR : un nouvel outil pour le diagnostic médical. La recherche n° 249 décembre 1992; (24):1462-1467.
- [152]-K.D. EISNASH, M.D. CAVE, J.H. BATES, J.Y. CRAWFORD. Polymerase chain reaction amplification of a repetitive DNA sequence specific for *Mycobacterium tuberculosis*.
- [153]-L.E. FRENCH, J.-H. SAURAT. Techniques de biologie moléculaire utilisées pour le diagnostic des maladies cutanées. *Dermatologie et infections sexuellement transmissibles* (4^{ème} édition).Masson, tome1, p.38-39.
- [154]-M. FAUVILLE – DUFFAUX. Tuberculose et mycobactérioses : place de la Biologie Moléculaire au laboratoire de diagnostic. Diagnostic et surveillance des maladies infectieuses 17/11/05. 21^{ème} séminaire : 15-20. Société Belge de Biologie Clinique.
- [155]-A.J. HANDE, B. GRANDCHAMP, V. LEVY-FREBAULT, D. LECOSSIER, J. RAUZIER, D. BOCART, B. GICQUEL. Detection and identification of mycobacteria by amplification of mycobacteria DNA. *Mol. Microbiol.*1989;**3**:843-849.

- [156]-A. NOEL-BRISSON, C. AZNAR, C. CHUREAU, C. PIERRE, M. BARTOLI, G. PLALOUX, G. GARRIGUE. Diagnosis of tuberculosis by DNA amplification in clinical practice evaluation. *Lancet* 1991;(338):364-366.
- [157]-A. NOEL-BRISSON. Diagnostic rapide de la tuberculose par PCR. *Med.Hyg* 1991 ;**49**:1081-1082.
- [158]-G. FURELAND. La découverte de la structure de l'ADN. Avril 2003.
- [159]-Reproduction conforme de la cellule et réplication de l'ADN. Thème 1 : la Terre l'Univers, la Vie et l'évolution du Vivant. Partie A : EXPRESSION, STABILITE ET VARIATION DU GENOME. Chapitre 3. Documents pour l'enseignement des sciences de la vie et de la terre. JDI 2011-2012- Académie de Grenoble.
- [160]-M. PROVOST. Organisation moléculaire des structures du vivant. Chapitre 2. Cours de biologie NP1- Acides nucléiques.
- [161]-J. DUMARESQ. Biologie moléculaire: de la théorie à la pratique.15 juin 2012.
- [162]-G.T. NOORDHOEK. J.D. VAN EMBDEN, A.H. KOLK. Reliability of nucleic acid amplification for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and international collaborative quality control study among 30 laboratories. *J.Clin.Microbiol.* 1996; **34**:2522-2525.
- [163]-G.T. NOORDHOEK, A.H. KOLK, G. BJUNE, D. CATTY, J.W. DALE, P.E. FINE. Sensitivity and specificity of PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis* : a blind comparison study among seven laboratories. *J.Clin.Microbiol* 1994; **32**:277-284.
- [164]-J. MAUGEIN, M. DAILLOUX, R. BARIAUD, J.-L. HERMANN, F. MORET, R. CHATAIGNE. *Mycobacterium tuberculosis* par PCR Amplicor : Evaluation des différentes techniques de préparation des échantillons tissulaires pour la détection de *mycobacterium tuberculosis* par PCR AmplicorTM. *Journal d'information biomédicale* 2001;(59):25-27.
- [165]-M. WIEDMANN, W.J. WILSON, J. CZAJKA, F. BARANY, C.A. BATT. "Ligase chain reaction (LCR) – overview and applications". *PCR Methods and Applications* 1994 Feb;**3**(4):S51-64.

- [166]-F. GAMBOA, J. DOMINGUEZ, E. PADILLA, J.M. MANTEROLA, E. GAZAPO, J. LONCA, L. MATAS, A. HERNANDEZ, P.J. CARDONA, V. AUSINA. Rapid diagnosis of extrapulmonary tuberculosis by ligase chain reaction amplification 1998. *J Clin Microbiol*; **36**(5) :1324-1329.
- [167]-A. TAYTARD . J. TEXIER-MAUGEIN. Tuberculose-Bactériologie. Révisé le 03/04/2008(Mise à jour le 03/04/2012). Fédération Girondine de Lutte contre les Maladies Respiratoires (FGLMR) 2013.
- [168]-C.C. BOEHME, P. NABETA, D. HILLEMANN, M.P. NICOL et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med*. 2010;**363**:1005-15.
- [169]-D. HELB, M. JONES, E. STORY, C. BOEHME, E. WALLACE, K. HO et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology *J Clin Microbiol*. 2010;**48**:229-37.
- [170]-F. DOUCET-POPULAIRE. Apport de la technique PCR par la technique GeneXpert® dans le diagnostic et le traitement de la tuberculose (test Xpert MTB/RIF). 13^{èmes} journées nationales d'infectiologie. 13-15 Juin 2012.
- [171]-C.P. AUDIGIER. GeneXpert technology. Workshops tuberculosis molecular. Symposium février-mars 2012 Yaoundé (Cameroun).
- [172]-V. LALANDE. Diagnostic bactériologique de la tuberculose : Nouvelles techniques. Service de Bactériologie – Virologie, Hôpital Saint-Antoine.
- [173]-G. DURAND, S. FREZET. Biologie moléculaire en routine au laboratoire de bactériologie. *Enseignement DES Bactériologie*-semestre hiver 2002/2003.
- [174]-C. MARTIN, M.-C. BACLET, C. SOLA, N. CALVO, C. ROCHET, J. MALLON, H. BEZANAHARY, F. DENIS. Typage des souches de *Mycobacterium tuberculosis* isolées au CHU de Limoges de 1998 à 2006 par spoligo- et MIRU-TYPING.
- [175]-A.TROESH (bioMérieux) et coll. : Puces à ADN : Une nouvelle approche pour le génotypage des mycobactéries. *Journal of Clinical Microbiology*, numéro de Janvier 1999.
- [176]-J.L. KOECK, M. CHAKOUR, R. TEYSSOU. Apport de la Biologie Moléculaire au diagnostic bactériologique. *Revue Française des Laboratoires* 2001: 37-41.

- [177]-B. VIARD, C. ERRACHID. Les puces à ADN. *Projet tutoré. Enseignement Licence professionnelle CAB*- année : 2005-2006.
- [178]-D. GRENIER. Les biopuces : des microtechnologies au service de la biologie.
- [179]-S. TROMBERT-PAOLANTONI, P. FIGARELLA, V. CLAIRET. Apport de la détection des mycobactéries du complexe *tuberculosis* par PCR dans des prélèvements pulmonaires et extrapulmonaires. *Path Bio* 2006 ; **54** :488–492
- [180]-I. BOURNERIAS. Notre expérience de la PCR dans la détection des bacilles de la tuberculose dans les biopsies cutanées incluses en paraffine. *Maladies infectieuses* 2006 ; **133** (4): 383-385.
- [181]-A.D. KHOSRAVI, M. OMIDIAN. Application of PCR technique for laboratory diagnosis of cutaneous tuberculosis. *Pak J Med Sci* 2006 ;**22**(3):391-394.
- [182]-S.H. TAN, H.H TAN, Y.J. SUN, C.L. GOH. Clinical utility of polymérase chain reaction in the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in different type of cutaneous tuberculosis and tuberculids. *Ann Acad Med Singapore* 2001 ; **30**:3-10.
- [183]-A.H. SOLIS et al. Skin biopsy: a pillar in the identification of cutaneous *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Infect Ctries Dev* 2012; **6** (8):626-631.
- [184]-L. PADMAVATHY, L. RAO, A. VELIATH. Utility of polymerase chain reaction as a diagnostic tool in cutaneous tuberculosis. *Indian J Dermatol Venereo Lepro* 2003;**69**:214-216.
- [185]-S.K. ARORA, B. KUMAR, S. SEHGAL. Development of a polymerase chain reaction dot-blotting system for detecting cutaneous tuberculosis. *Br J Dermatol*. 2000;**142**: 72-76.
- [186]-P.F. HSIAO ,C.Y. TZEN, H.C. CHEN, H.Y. SU. Polymerase chain reaction based detection of *Mycobacterium tuberculosis* in tissues showing granulomatous inflammation without demonstrable acid-fast bacilli. *Int J Dermatol* 2003;**42**:281-6.
- [187]-N.S. PENNEYS, C.L. LEONARDI, S. COOK. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in five different types of cutaneous lesions by the polymerase chain reaction. *Arch Dermatol*1993;**129**:1594-8.
- [188]-F. NACHBAR, V. CLASSEN, T. NACHBAR, M. MEURER, C.G. SCHIRREN, K. DEGITZ. Orificial tuberculosis: detection by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 1996;**135**:106-9.

- [189]-S.R. CHOI, J.K. KIM, D.H. KIM, M.S. YOON. A Case of Tuberculosis Cutis Orificialis with Perianal Involvement. *Ann Dermatol* 2009; **21**(4):443-446.
- [190]-S. TANIGUCHI, M. CHANOKI, T. HAMADA. Scrofuloderma : the DNA analysis of mycobacteria by the polymerase chain reaction. *Arch Dermatol* 1993;129:1618-9.
- [191]-K. DEGITZ, M. STEIDL, U. NEUBERT, G. PLEWIG, M. VOLKENANDT. Detection of mycobacterial DNA in paraffin-embedded specimens of lupus vulgaris by polymerase-chain reaction. *Archives of Dermatological Research* 1993; 285:168-170.
- [192]-O. BAYLAN, E. ARCA, A. OZCAN, O. KISA, A. ALBAY, L. DOGANCI. Polymerase chain reaction based detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in lupus vulgaris: a case report. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004;8(9):1147–1150.
- [193]-M. STEIDL, U. NEUBERT, M. VOLKENANDT, R. CHATELAIN, K. DEGITZ. Lupus vulgaris confirmed by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 1993; **119**:314-8.
- [194]-U. SERFLING, N.S. PENNEYS, C.L. LEONARDI. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in a case of lupus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1993;**28**:318-22.
- [195]-M. SENOL, A. OZCAN, B. MIZRAK, A.C. TURGUT, S. KARACA and H. KOCER. A case of lupus vulgaris with unusual location. *The Journal of Dermatology* 2003;**30**: 566–569.
- [196]-T.S. CHENG et al. A lady with papulonodular lesions: a of papulonecrotic tuberculid. *H K Dermatol venereol Bull* 2004;**12**:93-96.
- [197]-K. DEGITZ, M. STEIDL, P. THOMAS, G. PLEWIG, M. VOLKENANDT. Aetiology of tuberculids. *Lancet* 1993; **341**:239-240.
- [198]-A. ALOTHMAN, M. AL QAHTANI, S. AL KHENAIZAN. Erythema induratum: What is the role of *Mycobacterium tuberculosis*? *Ann Saudi Med* 2007; **27**(4): 298-300.
- [199]-K. DEGITZ, G. MESSER, H. SCHIRREN, et al. Successful treatment of erythema induratum of Bazin following rapid detection of mycobacterial DNA by polymerase chain reaction. *Arch Dermatol* 1993;**129**:1619-20.
- [200]-G.W. KIM, H.J. PARK, H.S. KIM, H.W. CHIN, S.H. KIM, H.C. KO, M.B. KIM, B.S. KIM. Simultaneous occurrence of papulonecrotic tuberculid and erythema

- induratum in a patient with pulmonary tuberculosis. *Pediatr Dermatol* 2012;**30**(2) :256-9.
- [201]-**A.M. DONGRE, S.A. SANGHAVI, U.S. KHOPKAR.** Papulonecrotic tuberculid at the site of tuberculin test in a patient with concomitant erythema induratum and papulonecrotic tuberculid. *Indian J Der Venereo Lepro* 2013;**79**:248-251.
- [202]-**V. JARLIER, E. CAMBAU, W. SOUGAKOFF.** Quels sont les nouveaux outils diagnostiques de la tuberculose ? Quel est leur intérêt pour la prise en charge du malade et quelles sont leur indication ? Les tests d'amplification génique. *Revue des Maladies Respiratoires*. Elsevier Masson 2004;**21**(3)C-2 : 3S36-3S43.
- [203]-**J.L. HERRMAN, B. HEYM, V. VINCENT.** Epidémiologie et détermination de la résistance de *Mycobacterium tuberculosis*. Application en infectiologie et cancérologie. Biologie moléculaire en biologie clinique. M. BOGARD, J. LAMORIL ; vol.3 *Collection OPTION Biol.* 1999 Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS.
- [204]-**C. TRUFFOT-PERNOT, N. VEZIRIS.** Les tests bactériologiques de la tuberculose maladie : standards et perspectives. *Rev Mal Respir* 2011; **28**(8):1034-1047.
- [205]-**World Health Organization.** Rapid implementation of the Xpert MTB/RIF diagnostic test. Geneva: WHO, 2011.
- [206]-**M. BOGARD, J. LAMORIL.** Biologie moléculaire et infectiologie. *Les technologies de laboratoires* septembre-octobre 2008;(11) :10-24.
- [207]-**D. SCULIER.** Xpert MTB/RIF pour le diagnostic rapide de la TB sensible et multi-résistante et la TB associée au VIH. *Atelier Régional Afrique Francophone Lomé, Togo.* 25-27 janvier 2012.
- [208]-**W.A. MC MILLAN.** Test Systems for Fast and Automated Molecular Diagnostics. Vice President, Biotechnology Cepheid.
- [209]-**Procédure Xpert MTB-RIF.** Defining on-demand molecular diagnostics. Cepheid Innovation 2010.
- [210]-**E. POITRAS et A. HOUDE.** La PCR en temps réel: principes et applications *Rev. Biol. Biotech* 2002;**2**(2):2-11
- [211]-**N. AMEZIANE, M. BOGARD, J. LAMORIL.** Principes de biologie moléculaire en biologie clinique. Elsevier. 2006 ; 705 pages. ISBN : 2-84299-2.

- [212]-Xpert® MTB/RIF. GeneXpert powered by CEPHEID INNOVATION. 71001641
Rev. D July 2011:17-26.
- [213]-R. RAMOUSSE, M. LE BERRE , L. LE GUELTE. Introduction aux statistiques.
Copyright l'année 1996.
- [214]-S.D. LAWN, A. ZUMLA. Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis using the
Xpert® MTB/RIF assay. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012;**10**(6):631-5.
- [215]-S.D. LAWN, P. MWABA, M. BATES, A. PLATEK, H. ALEXANDER et al.
Advances in tuberculosis diagnostics : the Xpert MTB/RIF assay and future
prospects for a point-of-care test. *Lancet Infect Dis* 2013;**13**: 349-61.
- [216]-V. VADWAI, C. BOEHME, P. NABETA, A. SHETTY, D. ALLAND, C.
RODRIGUES. Xpert MTB/RIF: a new pillar in diagnosis of extrapulmonary
tuberculosis? *J Clin Microbiol* 2011;**49**(7):2540-5.
- [217]-D. HILLEMANN ,S. RÜSCH-GERDES, C. BOEHME and E. RICHTER. Rapid
molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated
GeneXpert MTB/RIF System. . *J Clin Microbiol* 2011;**49**(4):1202-1205.
- [218]-E. TORTOLI, C. RUSSO, C. PIERSIMONI et al. Clinical validation of Xpert®
MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Eur Respir J* 2012;
40(2):442-7.
- [219]-R. GOPINATHAN, D. PANDIT, J. JOSHI, H. JERAJANI, M. MATHUR.
Clinical and morphological variants of cutaneous tuberculosis and its relation to
mycobacterium species. *Ind J Med Microbiol* 2001;**19**: 193-196.
- [220]-P. BEMER. La tuberculose au laboratoire. Bactériologie, Nantes.
- [221]-R.R. RANAWAKA, P.H. ABEYGUNASEKARA, E. PERERA et al. Letter:
Clinico-histopathological correlation and the treatment response of 20 patients
with cutaneous tuberculosis. *Dermatology Online Journal* 2010;**16**(8): 13.

ANNEXES

ANNEXE 1

FICHE TECHIQUE DES CAS DE TUBERCULOSE CUTANEE

Nom :

Prénom :

Âge :

Sexe : Masculin Féminin

Adresse :

Etat civil : Célibataire Marié Divorcé Veuf

Profession:

Niveau socio-économique : Favorable Moyen Bas

Mode vie : Urbain Rural

Antécédents : - Personnels : -Cicatrice BCG : Présente Absente

-Habitudes de vie : Promiscuité Tabagisme Ethylisme

Toxicomanie

-Autres : °Médicaux : - Tuberculose : Présente Absente

- Autres :

°Chirurgicaux :

-Familiaux : °Notion de contagé tuberculeux : Présente Absente

°Autres :

Forme clinique : Scrofuloderme Gomme Lupus tuberculeux

Tuberculose verruqueuse Tuberculose orificielle

Erythème induré de Bazin Tuberculides Erythème noueux

Signes d'imprégnation : Présents Absents

Durée d'évolution : Inférieure à 1 an Comprise entre 1 an et 5 ans Supérieure à 5 ans

Adénopathie locorégionale : Présente Absente

Traitement non spécifique reçu : Antibiotiques

Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Traitement local

Antihistaminiques

Intradermoréaction à la tuberculine : - Mesuration :

- Positive Négative

Histologie :

Aspect spécifique (granulome tuberculoïde avec nécrose caséreuse (NC))

Aspect compatible (granulome tuberculoïde sans NC)

Aspect non concluant (absence de granulome tuberculoïde et de NC)

Cytologie du pus (quand il existe) :

Aspect spécifique (présence de nécrose caséreuse (NC))

Aspect compatible (granulome tuberculoïde sans NC)

Aspect non concluant (absence de granulome tuberculoïde et de NC)

Bactériologie :

- Recherche de BK dans le **pus** ou la **sérosité**

Examen direct : Positif Négatif Non fait

Culture : Positive Négative

- Recherche de BK dans le **fragment biopsique**

Examen direct : Positif Négatif Non fait

Culture : Positive Négative

Résultats de la PCR : PCR Positive PCR négative

Bilan de dissémination :

- Radiographie thoracique : Normale Suspecte
- Recherche de 3 BK dans les **crachats** : Positive Négative
- Recherche de 3 BK : -dans les urines : Positive Négative Non faite
-dans les pertes : Positive Négative Non faite
-dans les selles : non faite.
- Autres examens : (selon le contexte clinique)

Bilan préthérapeutique : FNS, TGO, TGP, urée sanguine, créatinine sanguine, dosage de l'uricémie, examen ophtalmologique (en cas d'instauration de l'éthambutol).....

Sérologie HIV : Positive Négative

Association avec un autre foyer tuberculeux (extra cutané) :

Pulmonaire Osseux Ganglionnaire Urogénital
Péritonéal Pleural Péricardique Méningé
Oculaire Mammaire Intestinal Autre

Traitement antituberculeux :

- protocole :

2RHZ/4RH 2RHZE/4RH 2RHZE/10RH

Autres produits

- durée :

Réponse au traitement : Favorable Défavorable Indéterminée

ANNEXE 2

LA TECHNIQUE DE DECONTAMINATION

La procédure varie selon que l'échantillon soit un pus ou un fragment biopsique :

- La technique de décontamination des prélèvements de pus selon le procédé suivant:

- 1- remplir le tube contenant l'écouvillon de 4 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) à 4 %.
- 2- laisser agir 10 minutes.
- 3- neutraliser ensuite en ajoutant 3,4 ml de soude (NaOH) à 6 %.
- 4- ensemer en frottant délicatement sur toutes ses faces à la surface du milieu Lowenstein-Jensen.
- 5- incuber dans une étuve à une température de 37° C pendant au moins 28-42 jours.

La technique de décontamination-homogénéisation des fragments cutanés (biopsies) selon la démarche suivante:

- 1- broyer dans un mortier avec du sable stérile.
- 2- ajouter l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 4 %.
- 3- laisser agir à la température ambiante pendant 15 minutes avec 2 gouttes de bleu de bromothymol (indicateur coloré de PH).
- 4- neutraliser avec la soude (NaOH) à 6 %.
- 5- ensemer sur le milieu Lowenstein-Jensen.
- 6- incuber dans une étuve à une température de 37°C pendant au moins 28-42 jours.

ANNEXE 3

COMPOSITION DU MILIEU DE LÖWENSTEIN-JENSEN

La solution I dont la composition est la suivante :

-KH₂PO₄ (Merck): 2,4g

-MgSO₄ (Merck): 0,24g

-Citrates de Mg (Merck): 0,60g

-L-Asparagine (Merck): 3,60g

-Glycol (Merck): 12g

-Eau distillée : 600ml

Dissoudre et stériliser la solution I à l'autoclave à 121-124°C pendant 10 à 15 minutes, puis y ajouter 30 g de fécule de pomme de terre (stérilisé).

Chauffer à 100°C jusqu'à épaississement. Laisser refroidir à température ambiante.

Homogénéiser 1 litre d'œufs entiers cassés stérilement. Incorporer au mélange précédent refroidi. Ajouter 20 ml de solution de vert de malachite à 2 %. Bien mélanger.

Répartir 3 à 4 ml du milieu par tube

Coucher les tubes sur un plan incliné et incuber pendant 40 minutes à 80°C pour obtenir la sodification du milieu par coagulation.

Résumé

La tuberculose cutanée demeure rare et de fréquence stable depuis plusieurs décennies.

Son diagnostic reste encore long et difficile du fait de la croissance lente des mycobactéries, et de leur présence en petit nombre dans les échantillons cutanés.

Nous avons évalué la performance de la technique de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), utilisant la nouvelle méthode Xpert® MTB/RIF, par rapport aux autres moyens de diagnostic, à savoir la culture et l'examen histologique, à travers une étude prospective portant sur une série de 46 cas de tuberculose cutanée.

De ce fait, la sensibilité et la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative de la technique PCR ont été calculées en prenant la culture et l'histologie comme examens de référence.

La culture pratiquée chez les 46 malades sur le milieu solide s'est révélée positive dans 14 cas (30,4 %).

La PCR effectuée chez les 46 patients s'est montrée positive dans 10 cas (21,7 %).

D'une façon globale, la comparaison des résultats de la PCR et des résultats de la culture ont montré une sensibilité de 71,5 %, une spécificité de 100 %, une valeur prédictive positive de 100 % et une valeur prédictive négative de 88,9 %.

La comparaison des résultats de la PCR par la technique du Xpert® MTB /RIF et des résultats de l'histologie ont estimé une sensibilité à 20,5 %, une spécificité à 71,4 %, une valeur prédictive positive à 81,2 % et une valeur prédictive négative à 13,4 %. Nous nous sommes intéressés à d'autres études portant sur la tuberculose cutanée ayant utilisé une PCR classique. Une comparaison des profils épidémiologiques et des résultats des différents examens à visée diagnostique d'une part et de la PCR d'autre part a été établie.

Dans la majorité des études, la sensibilité globale avoisine les 70 %. La spécificité varie entre les 90 et 100 %.

En conclusion, la sensibilité de la PCR s'avère moindre par rapport à celle de la culture et à celle de l'histologie dans le diagnostic de la tuberculose cutanée.

Mots clés: Tuberculose cutanée - Diagnostic - PCR - Xpert® MTB/RIF - Culture – Histologie - Sensibilité - Spécificité.

SUMMARY

Cutaneous tuberculosis is rare and frequency stable for several decades. Its diagnosis is still long and difficult, due to the slow growth of mycobacteria and their presence in small numbers in the skin samples. We evaluated the performance of the technique of the polymerase chain reaction (PCR), using the new Xpert ® MTB / RIF method, compared to other means of diagnosis: culture and histology, through a prospective study a series of 46 cases of cutaneous tuberculosis.

Thus, the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of the PCR technique were calculated by taking the culture and histology examinations as reference.

Culture performed in 46 patients on the solid medium was positive in 14 cases (30.4 %).

PCR performed in 46 patients was positive in 10 cases (21.7 %). Overall, the comparison of PCR results and those of culture showed a sensitivity of 71.5%, a specificity of 100 %, positive predictive value de100 % and a negative predictive value of 88.9%.

Comparison of the results of the PCR technique Xpert ® MTB / RIF and results of histology estimated sensitivity to 20.5 %, specificity to 71.4 %, positive predictive value of 81.2 % and a negative predictive value of 13.4 %. In parallel, we are interested in other studies of cutaneous tuberculosis, who used a conventional PCR. A comparison of epidemiologic patterns and results of various diagnostic exams on one side and on the other hand PCR was established.

In most studies, the overall sensitivity is around 70 %. The specificity varies between 90 and 100 %.

In conclusion, the sensitivity of the PCR proves less relative to that of the culture and histology in the diagnosis of cutaneous tuberculosis.

Keywords : Cutaneous tuberculosis.- Diagnosis - PCR - Xpert ® MTB / RIF - Culture - Histology - Sensitivity - Specificity .

ملخص

السل الجلدي نادر وتيرة مستقرة لعدة عقود.

التشخيص لا يزال طويلا وصعبا بسبب النمو البطيء المتفطرات ووجودهم في أعداد صغيرة في عينات الجلد.

قمنا بتقييم أداء تقنية تفاعل البلمرة متسلسلة (PCR)، باستعمال طريقة جديدة كسيرت® (MTB/RIF) التكنولوجيا.

والمقارنة مع غيرها من وسائل التشخيص: عملية الاستنبات وعلم الأنسجة، من خلال دراسة استطلاعية على مجموعة من 46 حالات السل الجلدي.

وبالتالي فإن حساسية وخصوصية، وحسبت القيمة التنبؤية الإيجابية والقيمة التنبؤية السلبية لتقنية (PCR) عن طريق اتخاذ عملية الاستنبات (culture) وعلم الأنسجة كمرجع. كانت نتائج عملية الاستنبات التي أجريت في 46 مريضا على المتوسطة الصلابة إيجابية في 14 حالة (30.4%).

تنفيذ PCR في 46 مريضا كان إيجابيا في 10 حالة (21.7%).

على أساس اجمالي، ويقارن بين نتائج (PCR) و نتائج عملية الاستنبات أظهرت حساسية تقدر ب 71.5%، و خصوصية ب 100%، وقيمة تنبؤية إيجابية 100% و القيمة التنبؤية السلبية من 88.9%.

المقارنة بين نتائج تقنية (PCR) كسيرت® (MTB / RIF) و نتائج علم الأنسجة يقدر حساسية ب 20.5%، و خصوصية ب 71.4%، وقيمة تنبؤية إيجابية ب 81.2% و القيمة التنبؤية السلبية 13.4%.

اتخذنا دراسات أخرى اهتمت بالسل الجلدي استخدموا (PCR) التقليدية. تأسست مقارنة بين أنماط الوبائية و نتائج الوسائل التشخيصية المختلفة من ناحية، و بين نتائج تقنية (PCR) من ناحية أخرى.

في معظم الدراسات، وجدنا حساسية عموما حوالي 70%. و خصوصية تختلف ما بين 90 و 100%.

في الختام، حساسية PCR تثبت أقل قيمة بالنسبة إلى عملية الاستنبات وعلم الأنسجة في تشخيص السل الجلدي.

الكلمات الرئيسية: السل الجلدي - التشخيص - (PCR) - كسيرت® (MTB / RIF) - الاستنبات - علم الأنسجة - الحساسية - خصوصية.

Clicours.COM