

## **Liste d'abréviation**

**TB** : Tuberculose

**TBEP** : Tuberculose Extra-pulmonaire

**BK** : Bacille de Koch

**MNT** : Mycobactéries non tuberculeuses

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**BKED**: Bacille de Koch Examen Direct

**ZN**: Ziehl-Neelsen (ZN)

## *Liste des figures*

**Figure 1** : Composition de paroi des *Bacille Acido-Alcolo-Résistant*(BAAR)

**Figure2** : Défense immunitaire réalisé par un macrophage

**Figure 3** : Distribution proportionnelle, par région des cas de TB rapportés en 2016

**Figure 4** : Mycobactérium tuberculosis sur milieu le Lowenstien-jensen

**Figure 5** : Appareil de GeneXpert

## *Liste des tableaux*

**Tableau 1** : Tableau de différents signes cliniques de tuberculose

**Tableau 2** : Nombre des cas positifs au BK dans les prélèvements de type crachat en 2016

**Tableau 3** : Répartition de l'infection selon l'âge

**Tableau 4** : Répartition de l'infection selon le sexe

# Sommaire

Introduction .....	1
--------------------	---

## **Partie1 : Etude Bibliographique**

1- Définition.....	2
2- Ethnologie.....	2
2.1Classification.....	2
2.2Caractéristiques.....	3
2.3- Mode de transmission.....	4
3-Formes cliniques de la tuberculose.....	4
3.1- Tuberculose extra-pulmonaire.....	4
3.2- Tuberculose pulmonaire commune .....	5
3.3- Physiopathologie.....	6
3.4-Signes cliniques.....	7
3.5-Facteurs de risque .....	7
4-Epidémiologie.....	8
4.1-Dans le monde .....	8
4.2- Au Maroc.....	8
5-Méthodes de diagnostic.....	9
5.1- Examen bactériologique.....	9
5.2- Examen radiologique.....	9
6-Traitements actifs et prévention.....	10
6.1-Traitements.....	10
6.2- Mécanismes d'action des différentes molécules.....	10
6.3- Tuberculose pharmaco-résistante.....	11
6.4- Prévention .....	11

## **Partie2 : Matériels et méthodes**

1-Cadre d'étude (étude rétrospective).....	12
2-Différentes techniques de laboratoire.....	12
2.1-Recueil des prélèvements de type crachat.....	12

2.2- Examen macroscopique des échantillons.....	12
3.-Examen Microscopique : Bacille de Koch Examen Direct (BKED) .....	12
3.1-Préparation du frottis.....	13
3.3- Technique de coloration (Ziehl Neelsen) .....	13
3.3--Identification de la bactérie isolée Bacille de Koch Culture (BKC).....	13
3.3.1-Culture des bactéries.....	14
4- Amplification génique par PCR de tuberculose (Technique GeneXpert).....	15

### **Partie3 : Résultats et discussion**

1-Taux de positivité de la tuberculose dans la population étudié...	16
2-pourcentage des cas positifs au BK selon le sexe.....	16
3-Pourcentage des cas positifs au BK selon l'âge .....	17
Conclusion.....	19
Références Bibliographique.....	20

# ***Introduction***

Pendant le dernier siècle, le monde est en challenge contre les infections respiratoires qui font partie des pathologies infectieuses les plus fréquentes, dont la tuberculose (TB) en particulier, qui due à des bactéries appartenant au genre *Mycobacterium*. Elle est la première cause de mortalité infectieuse due à un germe unique.

En effet, sur les 22 pays qui représentent les 80% du poids mondial de la tuberculose, 17 sont classés comme pays à faible revenu **(1)**.

Dans la plupart des régions du monde, le diagnostic repose encore essentiellement sur la microscopie directe, inapte à détecter un grand nombre de patients. En outre la faiblesse des plateaux techniques, le manque de personnel spécialisé, et la fréquence croissante du nombre de malades aggravent encore plus la situation.

Le traitement de la tuberculose reste une contrainte pour les patients et une lourde charge pour le système de santé. Annuellement, 2.3 million de personnes meurent encore de tuberculose. **(1)**. L'augmentation des décès est liée généralement à la résistance aux médicaments antituberculeux et le manque de sensibilisation.

Le vaccin par le BCG, développé il y a près d'un siècle, ne confère qu'une protection partielle.

C'est pourquoi nous sommes intéressés à ce sujet qui consiste à évaluer le diagnostic et le traitement de tuberculose.

Pour cela nous avons fixé comme objectifs spécifiques :

- Etude rétrospective concernant l'analyse des cas positifs au *Mycobacterium tuberculosis*.

## 1-Définition

La tuberculose est une maladie microbienne contagieuse due à *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch (BK) du nom du professeur Robert Koch qui l'a isolé en 1882. Elle affecte habituellement les poumons mais peut toucher d'autres organes (2).

## 2-Ethiologie

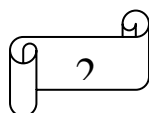
Les *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch sont des petits bacilles en forme de bâtonnets pouvant provoquer différentes maladies chez l'être humain.

### 2.1-Classification

L'agent étiologique de la tuberculose; *M. tuberculosis*, est une bactérie appartenant à la classe des *Actinobactéries*, l'ordre des *Actinomycètes*, la famille des *Mycobacteriaceae* au genre *Mycobactérium*.

Les *Mycobactéries* peuvent être divisées en trois grands groupes:

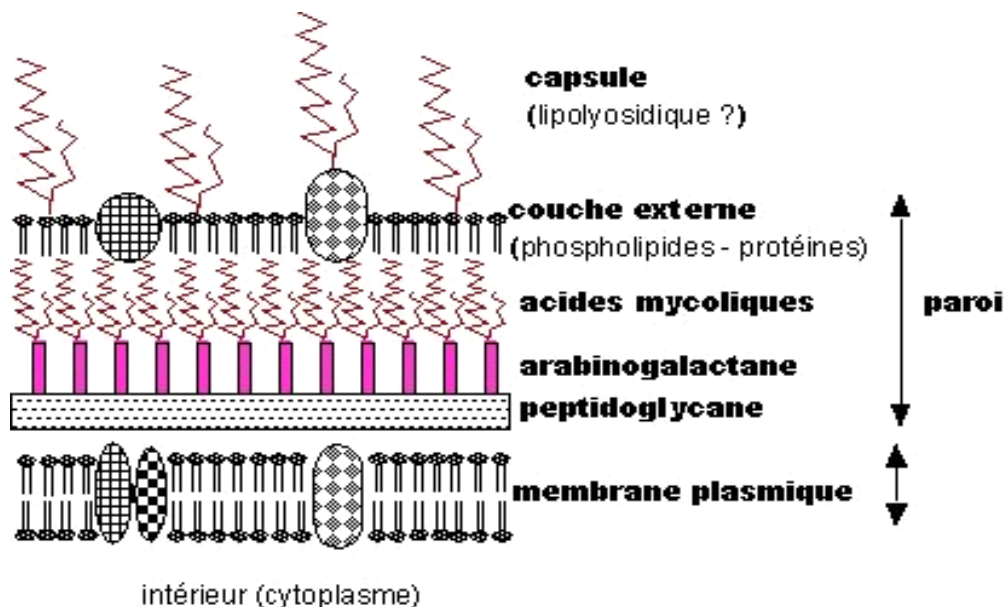
- Les mycobactéries tuberculeuses: ce groupe comprend *Mycobactérium tuberculosis*, *Mycobactérium africanus*, *Mycobactérium bovis*, *Mycobactérium microti*, *caprae* et *pinnipedii*, *Mycobactérium Canetti*. Elles peuvent provoquer la tuberculose (TB) chez l'homme. (2).
- Les mycobactéries non tuberculeuses (MNT) : ce groupe comprend toutes les autres *mycobactéries* potentiellement pathogènes pour l'être humain. En général les (MNT) ne sont pas transmises de personne à personne et ne sont pas pathogènes chez les personnes dont le système immunitaire est intacte ou le tissu pulmonaire est sain(2).
- *Mycobactérium leprae* est l'agent responsable de la lèpre.



## 2.2-Caractéristiques

Toutes les mycobactéries sont des bacilles fins, de 4  $\mu\text{m}$  de long et 0,4  $\mu\text{m}$  de large, non sporulant et dépourvus de capsule. Elles ne se décolorent ni sous l'action des acides forts, ni sous l'action de l'alcool d'où le nom de « **bacilles acido-alcoolo-résistants** » ou **BAAR**.

La propriété d'acido-alcoolo-résistance est liée à la structure de leur paroi cellulaire qui forme une véritable enveloppe cireuse et protectrice. En effet, l'une des caractéristiques majeures des mycobactéries est la richesse de leur paroi en lipides (60%) et en particulier, en acides mycoliques. Ce composant lipidique les rend imperméables aux colorants basiques. La coloration de Gram est donc difficilement réalisable (3) (Figure1).



**Figure1: composition de paroi des Bacille Acido-Alcolo-Résistant(BAAR)**

*M.tuberculosis* est une bactérie aérobic stricte. Elle se multiplie mieux dans les tissus pulmonaires que dans les organes plus profonds. Elle se multiplie plus lentement que la majorité des bactéries, c'est pourquoi l'évolution de la TB est plus lente (la maladie se déclare des semaines voire des mois ou des années après l'infection) que celle de la plupart des autres infections bactériennes(2).



### 2.3-Mode de Transmission

La transmission du bacille est interhumaine et s'effectue essentiellement par voie aérienne. La source de l'infection est un patient ayant une tuberculose pulmonaire(TBP) qui expectore des bacilles. En toussant, en parlant, ou en éternuant, le patient produit des fines gouttelettes infectieuses, Le diamètre de ces gouttelettes est d'environ 1 à 5 /1000 de millimètre. Elles peuvent rester en suspension dans l'air pendant plusieurs heures, selon l'environnement.

Les autres modes de transmission sont beaucoup moins fréquents. L'inoculation cutanée ou muqueuse aussi que la contamination digestive par *M.bovis et qui* peut survenir suite à la consommation de lait de vache sont très rare (3).

### 3. Formes cliniques de la tuberculose

La tuberculose peu se développer au niveau de nombreux organes autres que les poumons (4).

#### 3.1- Tuberculoses extra-pulmonaires

Elles représentent un faible pourcentage (25 %) et elles peuvent être accompagnées d'une localisation pulmonaire. Les formes extra-pulmonaires(EP) peuvent survenir à tout âge(les jeunes enfants...). Les patients infectés par le VIH sont plus susceptibles de développer une tuberculose extra-pulmonaire(TBEP).

##### 3.1.1 -Tuberculose ganglionnaire

La tuberculose ganglionnaire (TG) est la localisation extra pulmonaire la plus fréquente. La lésion est en général cervicale, unilatérale et unique. Les adénopathies multiples avec des localisations extra cervicales sont considérées comme les tuberculoses les plus importantes(4).

##### 3.1.2 –Tuberculose osseuse et articulaire

Ces forme de TB est la moins fréquente. Elle affecte les os longues et s'accompagnent parfois avec d'abcès froid. Cette présentation clinique est rencontré surtout chez les l'enfant, probablement à cause d'une meilleure vascularisation et d'une meilleure oxygénation des structure ostéo-articulaire au cours de la croissance.

### 3.1.3 –Tuberculose digestive

La contamination du tube digestif se fait par déglutition de sécrétions contaminées. L'ensemble du tube digestif peut être atteint, de la bouche à l'anus, avec des lésions pouvant aller de l'ulcération à la masse pseudo tumorale.

### 3.1.4 - Méningite tuberculeuse

La méningite tuberculeuse est une infection des méninges(les membranes qui enveloppent le système nerveux central). C'est la forme la plus commune de tuberculose du SNC(5).

### 3.2- Tuberculose pulmonaire commune

La tuberculose pulmonaire représente 75 % des cas. Cette forme de tuberculose affecte principalement les sommets lobaires et les segments postérieurs du parenchyme pulmonaire.

Cette localisation prédominante pourrait s'expliquer par la circulation lymphatique réduite aux apex et par le fonctionnement aérobie de la bactérie(6).

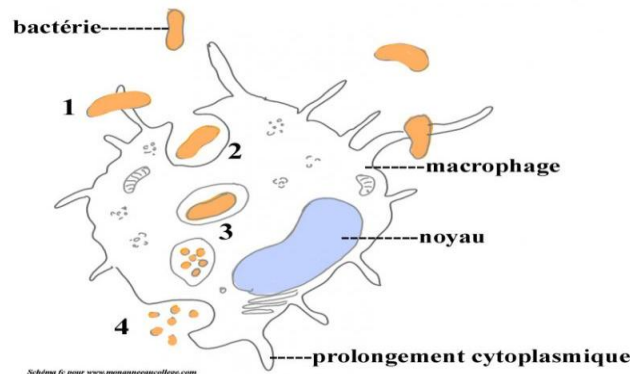
### 3.3-Physiopathologie

La pénétration aéroportée de bacilles se fait à travers l'oropharynx par inhalation de très fines gouttelettes de sécrétions respiratoires aérosolisées. Comme ces gouttelettes sont de petite taille, elles peuvent atteindre directement les alvéoles pulmonaires, les mycobactéries sont alors phagocytées par les macrophages alvéolaires(*Figure2*).

La suite dépend du nombre de mycobactéries inhalées et de la qualité des défenses innées de l'hôte :

- chez la plupart des sujets, les bacilles inhalés sont détruits par les macrophages.
- chez les autres, certains bacilles résistent et se multiplient dans les macrophages. Ils seront à l'origine soit d'une primo-infection (95 % des cas) soit d'une maladie tuberculeuse précoce (5% des cas).Durant la phase pré-immune, les bacilles sont phagocytés dans des macrophages alvéolaires où ils se multiplient. Cette micro-colonie bactérienne intracellulaire va aboutir à la lyse des macrophages infectés et à la libération des bacilles qui seront à leur tour phagocytés par d'autres macrophages constituant ainsi un foyer infectieux primaire. Le corps de la personne infectée réagit à cette « primo-infection » par le développement d'une réponse immunitaire cellulaire et la formation d'un granulome constitué principalement de macrophages infectés et de cellules T (7). La défense cellulaire est complétée par une défense immune, impliquant

les T-lymphocytes. Cette phase immune nécessite un délai de deux à trois semaines (immunité cellulaire retardée).



**Figure2 : Défense immunitaire réalisé par un macrophage**

### 3.4- Signes cliniques

Les signes cliniques de la tuberculose pulmonaire (TBP) sont assez spécifiques: Toux prolongée (plus de deux semaines) et expectoration. D'autres le sont moins : perte de poids, anorexie, fatigue, douleurs thoracique, fièvre modérée et sueurs nocturnes (1).

**Tableau 1. Signes cliniques de la tuberculose**

<i>Signes cliniques</i>	<i>Pourcentage</i>
Fièvre >38 °C	63.6
Céphalées	68.2
Vomissements	50
Amaigrissement	59
Raideur méningée	36.3
Paralysie des nerfs crâniens	27.3
Crises convulsives	9.1
Trouble de la conscience	36.3
Atteinte hémisphérique	50
Atteinte médullaire	27.3

Le signe le plus caractéristique, est l'hémoptysie (présence de sang dans les crachats). Il est retrouvé chez un tiers des patients.

Tous ces signes sont inconstants et évoluent dans le temps de façon chronique et insidieuse. L'interrogatoire du patient est donc essentiel.

### 3.5-Facteurs de risque

Le risque dépend d'un certain nombre de facteurs tel que l'existence des maladies associées à une immunodépression, l'existence de lésions pulmonaires préalable ou de la durée de l'exposition: infection par le VIH, diabète (risque multiplié de 3% à 5%), mal nutrition, alcoolisme et la toxicomanie.

## 4- Epidémiologie

### 4.1- Dans le monde

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) près de 2 milliards de personnes soit un tiers de la population mondiale constitue le réservoir du bacille. La tuberculose est responsable de 1,5 millions de mort dans le monde dont 95 % relèvent des pays à revenu faible et intermédiaire(9).

La distribution mondiale de la tuberculose concerne fortement les régions économiquement faibles (pays en voie de développement). Les 3 zones géographiques les plus atteintes sont l'Asie du Sud Est (33% des malades), l'Afrique (27%), et le Pacifique Occidental (19%). Ces 3 régions totalisent 84% des malades souffrant de la tuberculose. L'Amérique (Nord et Sud) et l'Europe représentent, respectivement, 4 et 5% des cas de tuberculose (10).

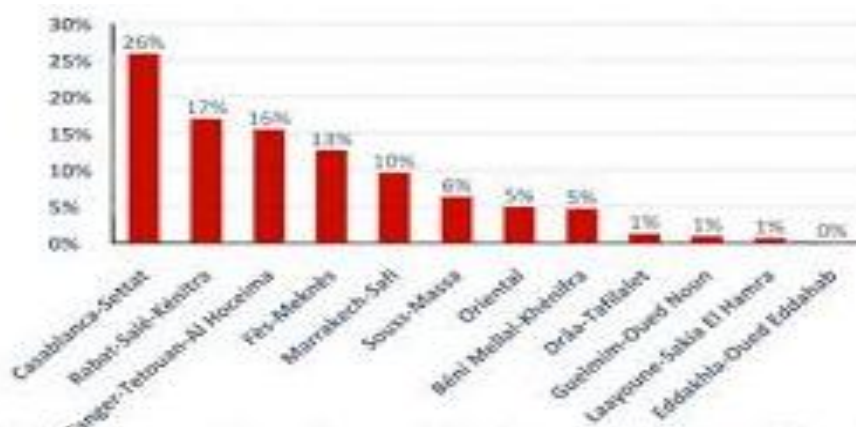
Environ 60% des cas sont concentrés en Afrique du Sud, au Brésil, en Chine, Russie et en Inde (pays du groupe "BRICS") (10).

### 4.2- Au Maroc

La tuberculose demeure un problème de la santé publique au Maroc, malgré la vaccination obligatoire et la lutte antituberculeuse.

En 2016 (11).

La distribution géographique révèle que 5 régions ont totalisé, à elles seules, 58 % des cas de tuberculose notifiés, avec une incidence dépassant la moyenne nationale. Ces régions étaient représentées par le Grand Casablanca, Rabat-Salé-Kenitra, Tanger-Tétouan et Fès-Meknès (11) (Figure3).



**Figure3: Distribution proportionnelle, par région des cas de TB rapportés en 2016**

## 5-Méthodes de diagnostic

Le diagnostic de tuberculose repose sur des critères bactériologiques (cas confirmés), ou sur des critères cliniques et radiologiques.

### 5.1-Examen bactériologique:

Le diagnostic de la tuberculose est avant tout bactériologique. Ces bacilles peuvent être recherchés au microscope après coloration de Ziehl-Neelsen (examen direct) ou après culture sur des milieux appropriés, ou par l'auramine constitue encore actuellement l'étape fondamentale du diagnostic de la tuberculose.

La découverte de bacilles acido-alcoolo-résistants(BAAR) dans un prélèvement, signe pratiquement le diagnostic(12).

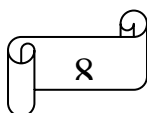
### 5.2- Examen radiologique

Cet examen repose sur la radiographie du thorax (RX) de face et profil. Chez l'adulte, les images radiologiques de la tuberculose peuvent prendre différents aspects dont certains peuvent être totalement atypiques, surtout lorsqu'il s'agit de personnes immunodéprimée(13). Les anomalies visibles sur le cliché thoracique notamment les nodules, infiltrats ou cavernes, sont le meilleur signe prédictif d'une tuberculose et leur extension est corrélée au résultat des examens bactériologiques des expectorations.

- **Les nouvelles techniques de diagnostic microbiologique:**

La détermination rapide de la présence du génome bactérien par une méthode d'amplification (*polymérase Chain réaction* = PCR et réactions apparentées) constitue un progrès récent dans le diagnostic de la tuberculose mais ne représente pas encore la méthode de référence.(14)

En effet, les méthodes d'amplification sont en général positives dans les cas où l'examen direct de l'expectoration est lui-même positif, mais la sensibilité de la technique reste imparfaite, de l'ordre de 60 à 70%, dans les cas où l'examen direct est négatif.



## 6- Traitements actifs et prévention

### 6.1- Traitement

Le traitement de toutes les formes de tuberculose repose sur la prise régulière d'antibiotiques (**l'isoniazide (Nicotibine®)**, **la rifampicine (Rifadine®)**, **la pyrazinamide (Tebrazid®)** et **l'éthambutol (Myambutol)**).

La durée du traitement standard est de 6 mois et comporte 2 phases successives:

**La phase initiale** dure 2 mois et consiste en l'administration de 4 antibiotiques : *l'isoniazide, la rifampicine, la pyrazinamide et l'éthambutol*.

**La deuxième phase**, appelée aussi « **phase de continuation** », dure 4 mois et consiste en une bithérapie à base d'isoniazide et d'un second antibiotique, en général la *rifampicine*. La prise des médicaments est quotidienne par voie orale.

Il est important pour le malade de prendre tous ses médicaments régulièrement, selon le calendrier prescrit, pendant toute la durée du traitement. Sinon, la maladie risque de devenir incurable.

En cas de tuberculose bacillifère, (les BK sont retrouvés à l'examen direct des expectorations du malade) l'isolement, avec ou sans hospitalisation, est recommandé pendant la phase de contagiosité, laquelle peut être évaluée à 10-15 jours. En cas de doute sur l'existence d'une résistance des bacilles, l'isolement doit être prolongé.

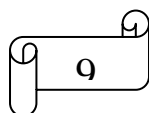
### 6.2-Mécanismes d'action des différentes molécules

**Isoniazide:** (INH) est un antituberculeux à activité bactéricide vis-à-vis du complexe tuberculosis (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne.

**Rifampicine:** Un antibiotique bactéricide dont l'action bactéricide se situe au niveau du génome bactérien par blocage transcriptionnel. La rifampicine se lie de façon covalente à la sous-unité bêta de l'ARN polymérase. La rifampicine a peu d'action sur l'ARN polymérase humaine(15).

**Pyrazinamide:** Un antituberculeux bactéricide sur les bacilles intracellulaires, il permet de transformer le pyrazinamide en acide pyrazinoïque, le composé actif, qui agirait en inhibant la synthèse des acides gras à chaînes courtes du BK(15).

**Ethambutol:** Antituberculeux synthétique spécifiquement actif sur les mycobactéries par inhibition de la synthèse des acides mycoliques(15).



### 6.3-Tuberculose pharmaco-résistante

C'est une forme de tuberculose qui se caractérise par un bacille résistant aux antibiotiques antituberculeux. La plus part des mycobactéries sont naturellement résistantes à la plupart des antibiotiques usuels. Toutefois, elles peuvent parfois présenter des résistances acquises aux antibiotiques (16). Cette dernière est toujours liée à des mutations de gènes chromosomiques et n'est pas transférable d'une souche à l'autre. La tuberculose pharmaco-résistante résulte d'un traitement suivi de façon irrégulière ou partielle. En effet, les malades omettent de prendre régulièrement tous leurs médicaments jusqu'à la fin de la période prescrite

(6 à 9 mois) par ce qu'ils commencent à se sentir mieux, ou parce que les médecins ou les agents de santé ne prescrivent pas le bon processus thérapeutique.

Une bactérie tuberculeuse résistante isolée d'un patient qui n'a jamais été traité pour une tuberculose auparavant, est considérée comme une souche de « résistance primaire ». Par contre, une bactérie tuberculeuse résistante provenant d'un patient traité précédemment pour une tuberculose (pendant au moins un mois), est probablement une mycobactérie mutante résistante apparue chez ce patient et est alors considérée comme une souche de « résistance secondaire ou acquise » (17)

### 6.4- Prévention

Le meilleur moyen d'éviter de contracter la tuberculose consiste à avoir une bonne hygiène de vie, pour maintenir un système immunitaire fort (manger sainement, faire de l'exercice et gérer son stress.

Lorsqu'on est en contact fréquent avec des personnes qui ont la tuberculose :

Respecter les mesures d'hygiène lavage des mains, port d'un masque, etc.

Faire régulièrement des tests cutanés pour voir si l'on est porteur de la bactérie

Le BCG (Bacille de Calmette et Guérin) est le vaccin destiné à protéger contre la tuberculose.

Cette vaccination a pour but principal de protéger les jeunes enfants des formes graves de la tuberculose précoce(18).

## **1- Cadre d'étude (étude rétrospective)**

Il s'agit d'une étude rétrospective qui a intéressé 547 patients Marocains ayant consulté le laboratoire « centre biologique Maroc », pendant la période 1-1-2016 jusqu'au 31-12-2016, pour une analyse de la tuberculose. Les résultats d'analyses et les informations correspondant aux différents patients sont récupérés en utilisant un système informatique.

## **2- Différentes techniques de laboratoire**

### **2-1-Recueil des prélèvements de type crachat**

Le prélèvement d'expectoration est une partie importante de l'examen de dépistage de la tuberculose. Les expectorations sont des sécrétions qui viennent des poumons elles sont produites par une toux profonde venant de la poitrine. Les expectorations sont recueillies le matin à jeun, dans un flacon conforme au laboratoire. Trois prélèvements adéquats sont réalisés pour chaque patient.

**Le premier** échantillon est recueilli le jour de la consultation, **le deuxième** est recueilli le lendemain par le malade lui même. **Le troisième** échantillon est recueilli au laboratoire au moment où le patient ramène son 2ème échantillon.

D'autres types de prélèvement peuvent avoir lieu, tels que : urine, pus, liquide articulaire, aspiration bronchique, tubage gastrique.

Les échantillons sont par la suite étiquetés enregistrés à l'unité de sérologie dans le registre de paillasse.

### **2- 2- Examen macroscopique des échantillons**

Il s'agit d'une observation générale macroscopique des prélèvements. L'examen macroscopique permet de noter les principaux caractères des échantillons, en l'occurrence: La couleur, la consistance, la viscosité. Etc.

### **3-Examen Microscopique : Bacille de Koch Examen Direct (BKED)**

**L'examen microscopique** des produits d'expectoration est fondamental. Il permet rapidement de mettre en évidence la présence ou non des bacilles acido-alcoolorésistants BAAR responsables de la maladie.



### 3.1- Préparation du frottis

La préparation du frottis consiste à prélever une parcelle purulente ou hémorragique de crachat puis l'étalé en couche mince au centre de la lame.

Le frottis ainsi réalisé est séché à l'air pendant 15 à 20 mn. Puis fixé par 3 passages rapides sur la flamme rouge du bec bunsen.

### 3.2-Technique de coloration (Ziehl Neelsen)

La méthode de choix pour la bacilloscopie des frottis d'expectoration est la coloration de **Ziehl-Neelsen (ZN)**

Ce type de coloration est réalisé en trois étapes:

#### 1er étape : coloration par la fuchsine à chaud :

Recouvrir la lame en totalité de fuchsine pendant 10 minutes tout en chauffant doucement pour obtenir le dégagement de vapeur (2 à 3 fois). Rincer à l'eau distillée stérile.

#### 2eme étape : décoloration:

Recouvrir le frottis de solution d'acide alcool pendant 3 minutes. Rincer abondamment à l'eau, Cette étape a pour but de relever l'excès de la fuchsine.

#### 3eme étape : recoloration:

Recouvrir la lame pendant une minute d'une solution de bleu de méthylène. Rincer et un séchage de lame. Cette étape donne un fond bleu à la lame.

L'observation microscopique s'effectue au microscope optique, avec l'objectif à immersion. Les mycobactéries apparaissent alors comme des bacilles rouges sur fond bleu-gris.

### 3.3-Identification de la bactérie isolée Bacille de Koch Culture (BKC)

Afin de confirmer le diagnostic de TB et de réaliser un antibiogramme de la bactérie isolée une culture de celle-ci est réalisée selon la méthode de **Petroff utilisant le milieu Lowenstein - Jensen**. Le délai d'obtention de la culture est d'environ 3 à 4 semaines en milieu solides de 10-15 jours en milieu liquide. Ce délai est d'autant plus réduit que le prélèvement mis en culture est riche en bacilles.

### 3.3.1- Culture des bactéries

Cette méthode fait intervenir plusieurs étapes:

#### **Etape 1 : décontamination-fluidification**

En raison de la lenteur de multiplication du bacille tuberculeux (temps de doublement d'environ 20 h) et la croissance rapide des autres bactéries éventuellement associées, les produits pathologiques susceptibles d'être contaminés par une flore commensale doivent être décontaminés avant d'êtreensemencés.

Ainsi, Dans un tube conique stérile : contenant 2 à 3ml de crachat, 4 à 6 ml de NAOH et 2 à 3 gouttes de bleu de bromothymol sont additionnés. Le tout est agité vigoureusement et incubé à 37°C pendant 20 à 30 minutes.

#### **Etape 2: Neutralisation**

Après incubation, l'échantillon est additionné d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 4%, le virage de la couleur en jaune explique la neutralisation de la solution.

#### **Etape 3:Centrifugation**

La solution est par la suite Centrifugée à 3000t/minute (20 à 30mn). L'ensemencement du milieu est réalisé par la suite à partir du culot récupéré.

Les tubes sont examinés, le 3ème ou le 4ème jour d'incubation afin de détecter une contamination ou la présence de mycobactéries atypiques à croissance rapide. La lecture est ensuite faite une fois par semaine jusqu'à la 4ème semaine; ensuite une fois par mois jusqu'à le 3ème mois.

#### **✚ Expression des résultats**

##### **• Culture positive:**

Les cultures sont déclarées positives dès l'apparition, soit de :

- Colonies **typiques** avec croissance lente, aspects rugueuses et couleur beige prenant en vieillissant un aspect en choux fleur.
- Colonies **Atypique** à croissance rapide ou lente de différents aspects le plus souvent lisses avec une pigmentation assez caractéristique.

Les résultats doivent être exprimés quantitativement par tube:

##### **• Culture négative:**

La culture n'est jamais déclarée négative avant le 30ème jour et si elle reste stérile jusqu'au 60ème jour et si elle reste jusqu'au 90ème jour d'incubation (70 à 90 jours).

##### **• Culture contaminées:**

- Un taux de contamination compris entre 2 et 5% est normal.
- Un taux inférieur à 2% indique une trop forte décontamination
- Un taux de contamination supérieur à 5% indique que la décontamination n'est pas suffisante.

#### 4-Amplification génique par PCR d'ADN (Technique GeneXpert)

Ce test représente un tournant majeur pour le diagnostic de la tuberculose.  
Il permet un diagnostic exact et rapide.

Le GeneXpert est un outil diagnostique de la tuberculose rapide, sensible et spécifique au *Mycobacterium tuberculosis* (MT). Il est actuellement recommandé par l'OMS. (**Figure5**)

Cet appareil consiste à amplifier en temps réel l'ADN de *M. tuberculosis* et à déterminer la résistance de celle-ci à la Rifampicine.



**Figure5 : Mycobactérium tuberculosis sur milieu le Lowenstien-jensen**

Notre étude repose sur l'analyse de 547 échantillons de nature crachat. La prédominance de l'utilisation des prélèvements de type crachat par rapport aux autres formes de prélèvements, ceci est due principalement au fait que :

- ✓ Les crachoirs sont facilement exploitables et donnent des résultats rapides et fiable
- ✓ Les crachats représentent l'outil le plus efficace pour détecter la tuberculose pneumonie.

## 1-Taux de positivité de la tuberculose dans la population étudié

Les 547 prélèvements recueillis ont été analysés. Les résultats sont présentés dans le tableau2.

**Tableau 2 : Nombre des cas positifs au BK dans les prélèvements de type crachat en 2016**

	Effectif	Pourcentage%
<b>Cas positives</b>	49	9%
<b>Cas négatives</b>	498	91%
<b><u>Total</u></b>	547	100%

D'après les résultats trouvés, 49 ont été confirmé comme des positifs ce qui représente 9 % des prélèvements de type crachat (tableau 2)

## 2 .Répartition des cas positifs selon le sexe

La répartition a été réalisée selon le sexe. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

**Tableau 3: la répartition de l'infection selon le sexe**

Le sexe	Nombre de cas positifs	Pourcentage%
<b>Homme</b>	<b>30</b>	<b>61.22%</b>
<b>Femme</b>	<b>19</b>	<b>38.77%</b>
<b><u>Total</u></b>	<b>49</b>	<b>100%</b>

Les résultats obtenus montrent que sur l'ensemble des 49 échantillons positifs, le sexe masculin présente la majeure partie des cas positifs avec un pourcentage 61.22%. Alors que les femmes constituent seulement 38.77% avec 19 cas positifs. Ce qui nous ramène à conclure

que les hommes sont les plus exposés à une contamination par la tuberculose que les femmes. Des résultats similaires ont été rapportés par BOUAZIZI au laboratoire SAISS (2014-2015). Ils ont montré que la fréquence de l'infection tuberculeuse plus élevée chez les hommes que les femmes. Les pourcentages trouvés chez les hommes et les femmes sont respectivement 54%, 46% (Laboratoire SAISS 2014-2015).

Ceci peut-être expliqué par la consommation de tabac par les hommes plus que les femmes. En effet, le tabagisme, est suspecté depuis longtemps d'augmenter le risque de développement de la tuberculose. De par son effet irritant sur les voies respiratoires, le tabagisme influence également les mécanismes de défense immunitaire locaux. Il intervient dans plus des 20% des cas de la tuberculose au Maroc. La relation entre le tabac et la tuberculose était souvent masquée par l'association d'autres facteurs de risque tels que l'abus d'alcool et les conditions socio-économiques défavorables.

### **3-Répartition des cas positives selon l'âge**

La répartition a été réalisée selon l'âge. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

**Tableau 4 : Répartition de l'infection selon l'âge**

Tranche d'âge	Nombre des cas positifs	Pourcentage%
<b>0-4</b>	0	0%
<b>5-15</b>	3	6.12%
<b>16-20</b>	6	12.24%
<b>21-60</b>	34	69.38%
<b>Plus de 60ans</b>	6	12.24%
<b>Total</b>	<b>49</b>	<b>100%</b>

Le facteur d'âge est un facteur primordiale qui peu influencé le pourcentage de l'infection tuberculeuse.

Le tableau ci-dessus nous permet de relever que la population dont l'âge qui se situe entre 21-60 est la plus exposée à la maladie de la tuberculose avec un pourcentage de 69.38%. Alors que les autres tranches d'âge (0-4, 5-15, 16-20 et plus de 60ans) possèdent des faibles pourcentages qui sont respectivement (0%, 6.12% ,12.24% ,12.24%). Des résultats similaires ont été rapportés par BOUAZIZI au laboratoire SAISS (2014-2015). Les pourcentages qui sont trouvés pour chaque tranche d'âge sont les suivants : 0% ayant un âge compris entre la tranche 0-5 ans ; 7% ayant un âge compris entre la tranche 5-15 ans ; 9% ayant un âge compris entre la tranche 16-20 ans ; 65% ayant un âge compris entre la tranche 21-60 ans.(Laboratoire SAISS 2014-2015)

Ce résultat nous permet de conclure que la maladie touche surtout les jeunes. Ceci peut être expliqué par le fait que ces derniers possèdent plus d'interaction avec le milieu extérieure. La tuberculose est également fréquente chez les jeunes immunodéprimés VIH et non-VIH. On estime 10 millions de sujets co-infectés VIH/tuberculose dans le monde. Par ailleurs, l'infection VIH accélère la tuberculose.

# Conclusion

La tuberculose est un problème de santé publique causée par le *Mycobacterium tuberculosis*. Le traitement de la tuberculose reste une contrainte pour les patients et une lourde charge pour le système de santé.

D'après notre étude rétrospective qui a intéressé 547 patients Marocains ayant consulté le laboratoire « centre biologique Maroc », de Janvier 2016 à Décembre 2016 nous avons trouvé que les échantillons de type crachats présente la majeure partie par rapport aux autres types de prélèvement (urine, pus...).

Après l'analyse des différents échantillons, le taux de positivité était faible. Parmi les 547 échantillons, 9% des prélèvements de type crachat sont positifs, indiquant une tuberculose pulmonaire.

Le sexe masculin a représenté la majeure partie avec pourcentage de 5.49%, alors que les femmes ne représentent qu'un faible pourcentage de 3.51%.

La tranche d'âge de 21-60ans est la plus exposées à la maladie de tuberculose.

---

## **REFERENCES:**

- 1 OMS (Formation des formateurs en diagnostique microscopique de la tuberculose (2005)).
- 2) Guide pratique a l'usage des médecins, Infirmiers, Techniciens de laboratoire et auxiliaire de santé. Edition 2014 .Auteurs: FRACIS VARIANE, MICHAEL.L.RICH
- 3) OMS. « Formation des formateurs en diagnostic microscopique de la Tuberculose. (2005)
- 4) Gangadharam, P. R. & A. J. Droubi, (1981) Identification of mycobacterium by smear examination of the culture. *Tubercule* 62: 123-127.
- 5) Royaume du Maroc Ministère de la Santé Direction de l'Epidémiologie et de lutte contre les maladies. Programme national de lutte anti tuberculeuse - Edition Avril 2011.
- 6) [tps://fr.wikipedia.org/wiki/Mycobacteriaceae](https://fr.wikipedia.org/wiki/Mycobacteriaceae)
- 7) (Deretic et al., 2009; Liu and Modlin, 2008; Nathan and Shiloh, 2000).
- 8) BILLY C, PERRONNE C. Aspects cliniques et thérapeutiques de la tuberculose chez l'enfant et l'adulte. *EncyclMédChir, Mal Inf.* Mai 2004;1(2):81-98
- 9) *thèsede docteur médecine présentée et soutenue publiquement par SYLLA Bamby Gassama.Sous la direction de Jean Mrc DEBONNE: Professeur Agrégédu service .Le 29 Decembre2004*
- 10) Dye, C., S. Scheele, P. Dolin, V. Pathania& M. C. Raviglione, (1999) Consensus statement.Globalburden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country.WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA* 282: 677-686



- 11) WHO, (2008b) Global tuberculosis control 2008 - surveillance, planning, financing. WHO Report 2008. WHO/HTM/TB/2008.393
- 12) Laboratoire National de Référence de la tuberculose. Institut National d'Hygiène. Du 9 au 11 Décembre 2015. Avec le soutien financier du Fonds mondial.
- 13) Ministère de la Santé, Direction de l'Epidémiologie et de Lutte Contre les Maladies. Situation Epidémiologique de la Tuberculose Au Maroc – Année 2015.
- 14) Improving the diagnosis and treatment of smear -negative pulmonary and extra-pulmonary tuberculosis among adults and adolescents. Recommendations for HIV -prevalent and resource-constrained settings .World Health Organization, Geneva (2007.01)
- 15) Cambau et al. 2003
- 16) ATS. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in Adults and Children. Am J Respir Crit Care Med, Vol 161. 1376-1395, 2000.  
[www.thoracic.org/statements/resources/ HYPERLINK](http://www.thoracic.org/statements/resources/HYPERLINK)  
["http://www.thoracic.org/statements/resources/archive/tbadult1-20.pdf"](http://www.thoracic.org/statements/resources/archive/tbadult1-20.pdf)[archive/tbadult1-20.pdf](http://www.thoracic.org/statements/resources/archive/tbadult1-20.pdf)
- 17) WHO, 1997
- 18) Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 40, Issue 7, July 2010, Pages 383-390 N. Lounis, , J. Guillemont, , N. Veziris, , A. Koul, , V. Jarlier, , K. Andries.