

**APPORT DU GENEXPERT DANS LE
DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE
PULMONAIRE A L'HOPITAL PRINCIPAL
DE DAKAR BILAN SUR 1 AN**

Dédicaces

Après avoir remercié **Dieu le Tout Puissant**

Je dédie ce modeste travail

A mon très cher père

Pour m'avoir instruit, soutenu et encouragé

Vos conseils et orientations de même que votre rigueur m'ont été très utiles

Ce travail traduit ma gratitude et toute mon affection « Papa »

A ma très chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les immenses sacrifices consentis pour mon éducation et mon bien être. Je te remercie pour avoir toujours cru en moi et en mes compétences dans toutes les étapes de ma vie, mais aussi pour le soutien et l'amour que tu ne cesses de m'apporter depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction puisse m'accompagne pour toujours.

Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma force pour affronter les différents obstacles.

A mes adorables frères et sœurs : Marie Louise, Marthe, Léonie, Pierre, Blaise, Gabriel, mon neveu Henry Pierre et ma nièce Marguerite Marthe, je vous remercie pour les efforts consentis pour la cause familiale. Unissons-nous pour l'éternité.

A mon cher et tendre époux

Bien aimé merci énormément pour tout ton soutien, ton grand cœur et toutes tes qualités, ce travail est aussi le tien qu'il soit pour moi l'occasion de te prouver tout mon amour et toute ma fidélité.

Remerciements

Je tiens à remercier tout le personnel de l'Hôpital Principal de Dakar plus particulièrement la Fédération des Laboratoires pour l'accueil, la disponibilité et tout le soutien apporté tout au long de mon stage.

A tous mes promotionnaires et amis pour l'expérience enrichissante et pleines d'intérêt que vous m'avez fait vivre.

AUX MEMBRES DU JURY

A Notre Maître et Président de Jury

Monsieur Ngor FAYE, Maître de Conférences FST/UCAD

Nous tenons à vous exprimer toute notre gratitude et notre reconnaissance. Pour avoir bien voulu accepter de présider ce Jury. Votre grande générosité et votre culture scientifique font de vous un exemple à suivre. Cher maître recevez nos sincères remerciements.

A Monsieur Bécaye FALL Professeur agrégé du Val de Grâce

Cher Professeur, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans votre aide et votre encadrement. Nous vous remercions pour vos qualités exceptionnelles, votre patience, votre rigueur et votre disponibilité tout au long de ce mémoire. Permettez-moi cher maître de vous adresser nos remerciements les plus distingués.

A Monsieur Arfang DIAMANKA Maître-assistant FST/UCAD

Mes vifs remerciements à vous Docteur qui m'avez aussi fait l'honneur de guider ce travail. Collaborer à son enrichissement par votre direction judicieuse et votre soutien constant sans vous ménager. Votre rigueur scientifique et votre amour du travail bien fait sont connues de tous. Veuillez recevoir cher maître notre infini reconnaissance.

A Monsieur Malick FALL Maître de Conférences FST/UCAD

En acceptant de siéger à mon jury de soutenance, vous me faites un grand honneur. Votre rigueur pour un travail bien fait et votre générosité sont connus de tous. Permettez-moi cher maître de vous adresser nos remerciements les plus distingués

A Monsieur Mamadou DIALLO Chercheur à l'IRD

Pour avoir accepté de juger ce travail malgré toutes les charges qui vous incombent. Je souhaite que cette approche de travail puisse présenter un intérêt pour vous.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMK : Amikacine

ARN : Acide ribonucléique

BAAR : Bacille acido-alcool-résistant

BCG : Bacille de Calmette et de Guerin

BK : Bacille de Koch

FQ : Fluoroquinolone

INF: Interféron

INH: Isoniazide

KM: Kanamycine

MNT: *Mycobacterium non tuberculosis*

MR: Multirésistant

MTB : *Mycobacterium tuberculosis*

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymerase Chain Reaction

PIT : Primo-Infection

PNT : Programme National de lutte contre la Tuberculose

PZA : Pyrazinamide

RIF : Rifampicine

rpoB : RNA polymerase B subunit

SM : Streptomycine

TAG : Test d'amplification génique

TB-MDR : Tuberculoses à bacilles multirésistants

TB-UR : Tuberculoses à bacilles Ultra résistants

TB-RR : Tuberculose résistant à la Rifamicine

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine

WHO: World Health Organization

Z : Pyrazinamide

Liste des figures

FIGURE 1 : Mode de transmission de la tuberculose	5
FIGURE 2 : Structure microscopique de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6
FIGURE 3 : Structure de la paroi des Mycobacteries	8
FIGURE 4 : Technique de coloration de Ziehl-Neelsen à chaud	10
FIGURE 5 : Technique de coloration à l'Auramine	10
FIGURE 6 : Le Genexpert MTB / RIF	18

Liste des tableaux

Tableau I : Nature du prélèvement étudié	23
Tableau II : Validité du GeneXpert comparé au Ziehl-Neelsen	25

Table des matières

Dédicaces	i
Remerciements	ii
Liste des abréviations.....	iii
Liste des figures	iv
Liste des tableaux	iv
Table des matières	v
Introduction	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I.1. Historique de la tuberculose.....	3
I.2 Épidémiologie de la tuberculose	3
I.2.1 Dans le monde.....	3
I.2.2 En Afrique.....	4
I.2.3 Au Sénégal	4
I.3 Physiopathologie de la tuberculose.....	4
I.3.1 La transmission	4
I.3.2 Clinique.....	5
I.4 Mycobactéries responsables de la tuberculose.....	6
I.4.1. Classification.....	6
I.4.2 Caractères bactériologiques	6
I.4.2.1 Caractères cultureux.....	7
I.4.2.2 Caractères biochimiques	7
I.4.2.3 Caractères physicochimiques	8
I.4.3 Structure de la paroi des mycobactéries.....	8
I.5 Méthodes de diagnostic de la tuberculose.....	9
I.5.1 Diagnostic bactériologique	9
I.5.1.1 Prélèvements	9
I.5.1.2 Mise en évidence des agents de la tuberculose	10
a) Examen microscopique	10

b) Culture bactérienne	11
I.5.2 Diagnostic immunologique	12
I.5.2.1 Intradermo-réaction à la tuberculine (IDR).....	12
I.5.2.2 Test de libération d’interféron gamma	12
I.5.3 Diagnostic moléculaire	13
I.5.3.1 Test basés sur l’amplification génique par PCR	13
I.5.3.2 Autres développements	14
I.6 Traitement de la tuberculose	14
I.6.1 Traitement prophylactique	14
I.6.2 Traitement curatif.....	14
I.6.3 Les mesures de prévention.....	15
I.6.4 La vaccination	15
I.7 Résistance du complexe tuberculeux aux antituberculeux.....	16
I.7.1 Résistance naturelle.....	16
I.7.2 Résistance acquise.....	16
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	18
II.1 Cadre de l’étude.....	18
II.2 Type et période de l’étude	18
II.3 Population d’étude.....	18
II.3.1 Critères d’inclusion.....	18
II.3.2 Critères de non inclusion	18
II.4 Recueil des données.....	18
II.5 Saisie et analyses des données	19
II.6 Matériels et réactifs.....	19
II.6.1 Matériels	19
II.6.2 Réactifs	20
II.7 Méthodologie :.....	20
II.7.1 Prélèvements.....	20

II.7.2 Analyse des échantillons et description des procédures	20
II.7.2.1 Examen microscopique.....	20
II.7.2.2 Le test GeneXpert.....	21
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	22
III.1 Résultats	22
III.1.1 Population d'étude.....	22
III.1.2 Description de la population d'étude.....	22
III.1.2.1 Aspects épidémiologiques.....	22
III.1.2.1.1 Répartition des patients examinés selon le sexe.....	22
III.1.2.1.2 Répartition des patients examinés selon l'âge.....	22
III.1.2.1.3 Répartition des patients examinés selon le département	23
III.1.2.2. Aspects cliniques.....	24
III.1.2.3 Aspects bactériologiques.....	24
III.1.2.3.1 Nature du prélèvement	24
III.1.2.3.2 Résultats d'examen microscopique direct.....	25
III.1.2.3.3 Résultats du GeneXpert.....	25
III.1.2.3.4 Comparaison entre l'examen microscopique et le GeneXpert	26
III.1.2.4 Prévalence et répartition des cas positifs selon les tranches d'âge et le sexe	26
III.1.2.4.1 Prévalence de la tuberculose pulmonaire	26
III.1.2.4.2 Répartition des cas positifs en fonction du sexe.....	27
III.1.2.4.3 Répartition des cas positifs selon les tranches d'âge.....	27
III.2 Discussion	28
CONCLUSION, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES	31
Références bibliographiques	32
WEBOGRAPHIE.....	36

INTRODUCTION

La tuberculose est une maladie infectieuse contagieuse provoquée par une mycobactérie du complexe *tuberculosis* principalement *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch. A l'échelle mondiale, on estime qu'environ 10 millions de personnes ont contracté la tuberculose en 2018, nombre qui est resté relativement stable au cours des dernières années. La charge de morbidité varie considérablement d'un pays à l'autre, allant de moins de 5 à plus de 500 nouveaux cas pour 100 000 habitants par an, la moyenne mondiale étant d'environ 130 nouveaux cas (OMS, 2019).

On peut distinguer la tuberculose pulmonaire qui est la présentation la plus fréquente (70 à 75% des cas) et la seule forme contagieuse. On peut aussi avoir d'autres formes de tuberculose qui ne sont pas contagieuses appelées tuberculose extrapulmonaire (mal de Pott ou tuberculose des os, de l'œil, du cerveau, du péritoine, de la plèvre, du rein, des ganglions etc. ...)(OMS, 2019)

Le diagnostic de la tuberculose repose sur la mise en évidence de mycobactéries du complexe *M. tuberculosis* dans une expectoration ou un prélèvement de matériel biologique. Cependant ce diagnostic doit être précoce, rapide et précis. Ainsi la radiographie thoracique est une étape clé du diagnostic mais sa confirmation reste bactériologique.

Le diagnostic bactériologique est essentiel pour la prise en charge de la maladie puisqu'il permet d'identifier le bacille, de tester sa sensibilité aux anti-bacillaires et d'adapter ensuite le traitement en fonction des résultats de l'antibiogramme.

Cependant, en raison de la lenteur de la croissance des mycobactéries, et du délai d'obtention des résultats qui est assez long, une antibiothérapie systématique est administrée au patient ce qui favoriserait l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques et leur propagation dans la population. Entre 2017 et 2018, quelques progrès ont été réalisés dans le dépistage, la détection et le traitement de la TB-MR/TB-RR. À l'échelle mondiale, en 2018, 51 % des personnes atteintes de tuberculose confirmée bactériologiquement ont subi un test de dépistage de la résistance à la rifampicine, contre 41 % en 2017. La couverture par le dépistage était de 46 % chez les nouveaux patients et de 83 % chez les patients déjà traités. Au total, 186 772 cas de TB-MR/TB-RR ont été détectés et notifiés en 2018, soit une augmentation par rapport aux 160 684 enregistrés en 2017, et 156 071 cas ont été inscrits dans des programmes de traitement, contre 139 114 en 2017 (OMS 2019). De cet état de fait découle l'intérêt d'une méthode de diagnostic efficace et rapide.

C'est ainsi qu'en 2011, l'OMS a introduit l'utilisation du test Xpert MTB / RIF où GeneXpert MTB/RIF. Il s'agit d'un test moléculaire de diagnostic entièrement automatisé utilisant la technologie de PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel pour détecter simultanément les mutations de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine dans le gène rpoB.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes fixés comme objectif de ce travail d'évaluer l'apport du GeneXpert dans le diagnostic de la tuberculose pulmonaire à l'Hôpital Principal de Dakar.

De manière plus spécifique il s'agira de:

- déterminer les prévalences de la tuberculose en fonction du service hospitalier, l'âge et le sexe des patients souffrants de tuberculose ;
- déterminer la répartition de la prévalence de la tuberculose
- établir une comparaison entre l'examen direct de Ziehl-Neelsen et le test de GeneXpert.

Dans le premier chapitre de notre mémoire, nous ferons un rappel bibliographique sur la tuberculose pulmonaire et les mycobactéries. Ensuite, le deuxième chapitre exposera le matériel utilisé et la méthodologie adoptée. Enfin le troisième chapitre sera consacré aux résultats obtenus et leur discussion.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Historique de la tuberculose

La Tuberculose (TB) humaine est une maladie qui a été reconnue depuis la haute antiquité (Cosivi *et al.*, 1995). Elle a été décrite par Hippocrate sous le nom de « phtisie » et ses lésions ont été diagnostiquées sur des momies égyptiennes (Zink *et al.*, 2003).

Au début du XIX^e siècle, Laennec individualise la tuberculose. En 1865, Jean Antoine Villemin montre qu'il s'agit d'une maladie inoculable à l'animal et transmissible d'un animal à l'autre. En 1882, Robert Koch annonce la découverte de l'agent pathogène de la tuberculose appelé bacille de Koch. En 1921, Calmette et Guérin obtiennent un vaccin, le bacille de Calmette et Guérin (B.C.G), après 13 ans de subculture d'une souche pathogène de *Mycobacterium bovis* sur la pomme de terre biliée glycinée (Chaoui, 2014). Waksman découvre en 1944 la streptomycine, premier antibiotique actif sur le bacille tuberculeux. Puis ce fut la découverte en 1952 de l'isoniazide qui est un antibiotique bactéricide. En 1953, Buhler et Pollak confirment le pouvoir pathogène occasionnel de certaines espèces de mycobactéries. C'est en 1967 que Waksman fait la découverte de la rifampicine, deuxième antibiotique antituberculeux. En 1968, Castets *et al.* décrivent une variété africaine de bacille tuberculeux, qui est élevée rapidement au titre d'espèce et appelée *Mycobacterium africanum* (Ossoga, 2015).

I.2 Épidémiologie de la tuberculose

I.2.1 Dans le monde

La tuberculose est l'une des 10 premières causes de mortalité dans le monde. En 2016, 10,4 millions de personnes ont contracté cette maladie et 1,7 million en sont mortes (dont 0,4 million ayant aussi le VIH) (OMS, 2017). Selon les estimations, 1,2 million de décès dus à la tuberculose (entre 1,1 et 1,3 million) ont été enregistrés chez les VIH-négatifs en 2018 (soit une réduction de 27 % par rapport aux 1,7 million de décès enregistrés en 2000), et 251 000 décès supplémentaires (entre 223 000 et 281 000) chez les VIH-positifs (soit une réduction de 60 % par rapport aux 620 000 décès enregistrés en 2000) (OMS, 2019). La tuberculose multirésistante demeure une préoccupation de santé publique et une menace pour la sécurité

sanitaire. L'OMS estime à 600 000 le nombre de nouveaux cas présentant une résistance à la rifampicine (le médicament de première intention le plus efficace), dont 490 000 sont des cas de tuberculose multirésistante (TB-MR) (OMS, 2017).

I.2.2 En Afrique

Dans les pays en développement, la tuberculose est une cause majeure de morbidité et de mortalité. Dans la plupart des pays à forte incidence tuberculeuse, l'outil de diagnostic fondamental reste l'examen microscopique et très peu de centres ont la capacité de faire la culture et des tests de chimiorésistance (OMS, 2019).

A cet effet, les données sur les souches multi-résistantes (TB-MR) sont très rares. L'incidence et le nombre de décès diminuent relativement rapidement dans la région africaine de l'OMS (4,1 % et 5,6 %, respectivement, par an), avec des réductions cumulées de 12 % pour l'incidence et de 16 % pour les décès entre 2015 et 2018. Sept (07) pays où la charge de la tuberculose est importante sont en voie d'atteindre les objectifs intermédiaires pour 2020 : Afrique du Sud, Kenya, Lesotho, Myanmar, République-Unie de Tanzanie et Zimbabwe (WHO, 2019). Les populations les plus exposées sont les pauvres des zones urbaines, les migrants et les réfugiés. L'Afrique est aussi le seul continent où les taux de tuberculose augmentent (OMS, 2019).

I.2.3 Au Sénégal

La tuberculose reste un problème de santé publique au Sénégal. La transmission de la maladie y est toujours intense et la prévalence élevée. La mortalité au Sénégal est de 18 sur 100 000 habitants. En outre, plus de 13 000 patients ont été sauvés de la tuberculose en 2018. Le taux de succès au traitement des patients est de 87 %. L'incidence a baissé de 140 cas sur 100.000 habitants à 122 cas sur 100.000 habitants en 2017 mais il y a encore des cas manquants, un cas sur trois n'est pas détecté (Marie, 2017).

I.3 Physiopathologie de la tuberculose

I.3.1 La transmission

La tuberculose est transmise par voie aérogène, d'une personne atteinte de tuberculose pulmonaire à une personne non infectée. L'infection se transmet par un aérosol de micro-gouttelettes de sécrétions bronchiques (« droplet nuclei »), qui sont projetées dans l'air ambiant par la toux et sont inhalées par une personne saine entrant en contact avec les gouttelettes (Fig.1). Le risque de contamination dépend de la concentration des mycobactéries

dans l'air ambiant, de la virulence des micro-organismes, de la durée d'exposition, de la prédisposition de la personne en contact et en particulier de l'état de son système immunitaire (Deschaseaux, 2005).

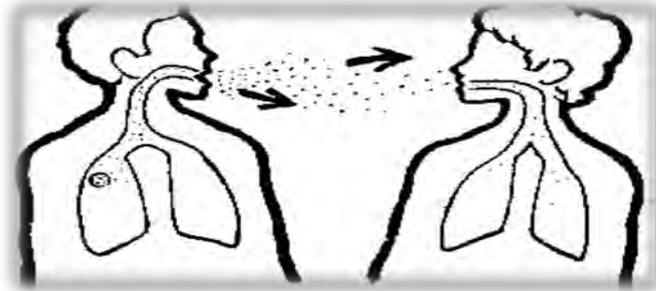


Figure 1 : Mode de transmission de la tuberculose

Source : <http://www.oocities.org/tuberculosepulmonaire/transmission.html>

Consulté le 25 Août 2020

I.3.2 Clinique

Classiquement, les symptômes de la tuberculose s'installent progressivement et persistent plus de 3 semaines. Ces symptômes, associant des signes généraux et respiratoires, sont non spécifiques occasionnant un retard de diagnostique et un risque de contamination de l'entourage. Les signes généraux sont marqués par une fièvre généralement modérée et à prédominance nocturne. Elle peut prendre un aspect oscillant avec des frissons dans certaines formes sévères. Les sueurs nocturnes sont très fréquentes, surtout dans les formes évoluées de tuberculose. Une altération de l'état général est observée mais souvent négligée par les patients. L'amaigrissement peut, dans les formes graves, dépasser 10 kg. L'anorexie et les malaises, fréquents dans la tuberculose évoluée, peuvent être les seuls signes de la maladie. La toux peut être absente au début de la maladie, puis devient de plus en plus fréquente et survient su tout le matin. Elle peut être non ou peu productive. Une toux fréquente et nocturne témoigne souvent d'une forme évoluée. Les sujets symptomatiques sont plus susceptibles d'avoir des bacilloscopies positives. Les douleurs thoraciques sont présentes en cas d'épanchements pleuraux (Bouhearoua, 2013).

I.4 Mycobactéries responsables de la tuberculose

I.4.1. Classification

Étymologiquement, le terme de *Mycobacterium* provient de deux racines empruntées au grec "Myces" pour champignon et "Bakterion" petit bâton. En fait, ces bactéries n'ont en commun avec les champignons que leur seule propension à se développer en s'étalant à la surface des milieux liquides (Carbonnelle *et al.*, 2003). Les agents responsables font partie :

Règne : *Bacteria*

Embranchement : *Actinobacteria*

Ordre : *Actinomycetales*

Sous ordre : *Corynebacterineae*

Famille : *Mycobacteriaceae*

Genre : *Mycobacterium*

Les mycobactéries tuberculeuses forment le « complexe tuberculosis » et comprennent :

Mycobacterium tuberculosis, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*,
Mycobacterium microti, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium pinnipedii*, *Mycobacterium canetti* (Agba, 2009).

I.4.2 Caractères bactériologiques

Mycobacterium tuberculosis est un pathogène strict et spécifique de l'homme. Les mycobactéries (Fig.2) sont des bacilles fins (sous forme de bâtonnet), légèrement incurvés, immobiles, incapables de former des spores et conidies ou capsules. Ils mesurent 1 à 10 µm de long sur 0,2 à 0,6 µm de largeur et leurs extrémités sont arrondies. Ce sont des Bacilles AcidoAlcool Résistants (BAAR). Cette résistance vient de la paroi très riche en lipides, elles ne prennent pas de coloration de Gram (Amel, 2014).

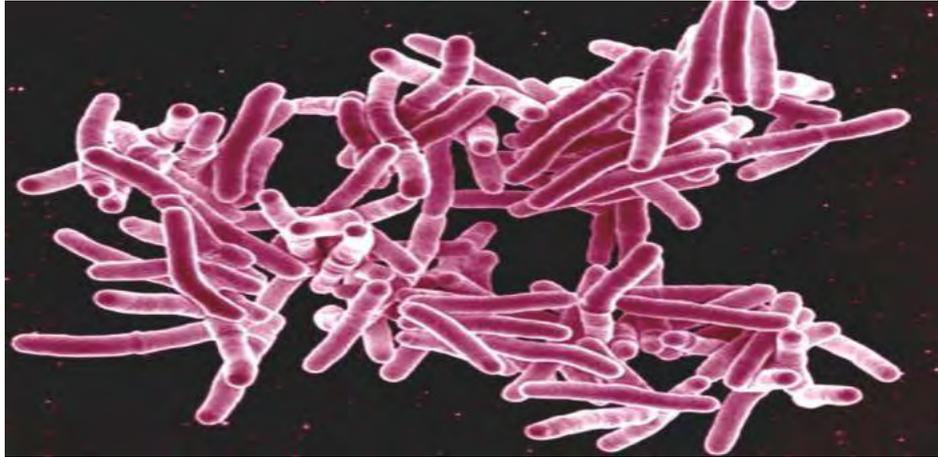


Figure 2 : Structure microscopique de Mycobacterium tuberculosis

Source : <https://www.flickr.com/photos/niaid/5149398656>

Consulté le 24 JUILLET 2020

I.4.2.1 Caractères cultureux

Les mycobactéries se différencient de la plupart des autres germes par leurs exigences métaboliques. Elles se caractérisent par une croissance lente, avec un temps de génération de 2 à 20 heures selon les espèces. Lors de l'isolement, les bacilles tuberculeux se développent très lentement, en quelques semaines à quelques mois. Lors de leur repiquage, la culture est plus rapide : elle apparaît en une dizaine de jours. *In vivo*, la nutrition carbonée est assurée par la glycérine pour le bacille tuberculeux humain ou le glucose pour le bacille tuberculeux bovin, la nutrition azotée étant assurée par l'asparagine. La température optimale de croissance est de 35 à 37°C, mais certaines espèces comme *M. marinum* et *M. ulcerans* poussent mieux à 32°C. Les températures maximales de culture étant de 30 et 41°C. Les variations de pH supportées sont faibles, elles sont comprises entre 6 et 8. Le pH optimal est de 6,7 à 6,9 (Bendadda, 2003).

I.4.2.2 Caractères biochimiques

Les caractères biochimiques et enzymatiques constituent les principales caractéristiques de l'espèce *M. tuberculosis* permettant son identification au sein du genre. *M. tuberculosis* est aérobie strict. Il est catalase positive et nitrate positif. Au cours de sa croissance, il synthétise une quantité importante d'acide nicotinique ou niacine qui peut être mise en évidence par une épreuve biochimique, le test niacine.

La positivité de cette épreuve est spécifique de *M. tuberculosis*. Il est sensible au pyrazinamide (PZA) et résistant à l'hydrazide de l'acide thiophène-2- carboxylique (TCH). Cette identification biochimique est cependant de plus en plus abandonnée au profit des techniques plus modernes (Agba, 2009)

I.4.2.3 Caractères physicochimiques

Les mycobactéries sont très sensibles à la chaleur, à la lumière solaire, aux rayons X et aux 13 UV ; de même, elles sont très sensibles aux produits liposolubles comme l'alcool et l'éther. Leur qualité de bacilles acido-alcool résistants ne s'adresse qu'à leur résistance à la décoloration. Elles résistent cependant au froid et à la dessiccation par lyophilisation, leur résistance allant jusqu'à quelques années de survie à l'état desséché et au froid. Elles sont plus résistantes que les bactéries usuelles aux désinfectants chimiques (H₂ SO₄, NaOH, détergents) hydrosolubles. Elles résistent également aux enzymes des phagocytes (les lysosomes ne contiennent que peu de lipases) (Diande, 2010).

I.4.3 Structure de la paroi des mycobactéries

La paroi mycobactérienne présente une architecture caractéristique et particulièrement complexe (Fig.3). Son squelette est composé de trois éléments majeurs associés de manière covalente : le peptidoglycane, l'arabino-galactane et les acides mycoliques. Ces derniers sont de longues chaînes d'acides gras (de 60 à 90 atomes de carbone) insérées parallèlement les unes par rapport aux autres et formant un arrangement compact perpendiculaire au plan de la membrane plasmique. Ainsi, ils constituent une enveloppe lipidique très peu perméable aux composés hydrophiles et en particulier à bon nombre d'antibiotiques. Les acides mycoliques, sont en effet associés covalentiellement au peptidoglycane par l'intermédiaire de polysaccharides (arabino-galactane). La teneur de la paroi en lipides est encore accrue par la présence de molécules de dimycolate de tréhalose et de sulfatides, qui sont exposées à la surface de la bactérie. Le dimycolate de tréhalose est responsable de la croissance en amas ou en corde des mycobactéries virulentes cultivées en milieu liquide (Benguedouar, 2016).

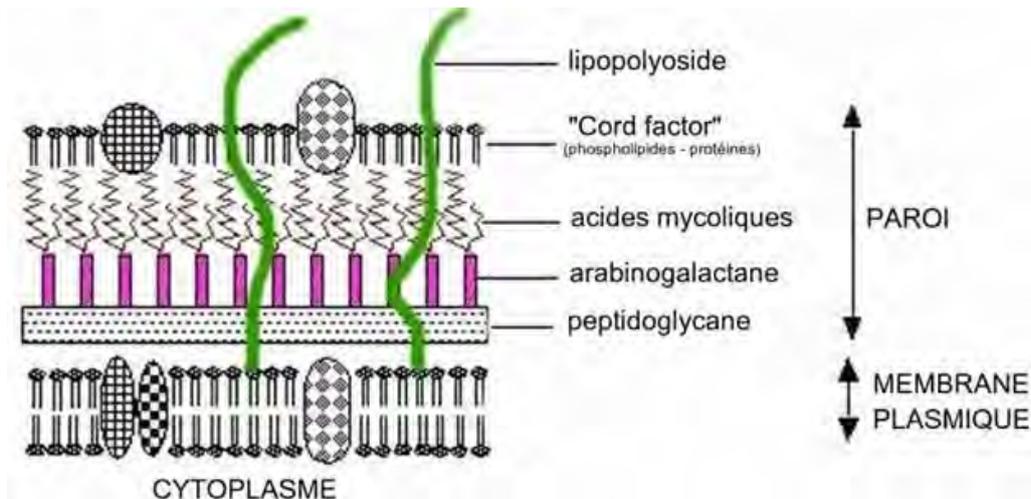


Figure 3 : Structure de la paroi des mycobactéries

Source : <http://microbiologiemedicale.fr/physiopathologie-et-diagnostic-des-infections/plan/definitions-et-classification/> Consulté le 13 Mars 2020

I.5 Méthodes de diagnostic de la tuberculose

I.5.1 Diagnostic bactériologique

Le diagnostic de certitude de la tuberculose repose sur la mise en évidence de *Mycobacterium tuberculosis* dans les prélèvements pathologiques : crachats et tubages gastriques pour la tuberculose pulmonaire.

I.5.1.1 Prélèvements

La symptomatologie de la tuberculose étant dominée par les formes pulmonaires, il est logique que la majorité des prélèvements parvenant au laboratoire soient d'origine pulmonaire en grande quantité (Deschaseaux, 2005).

- **Les crachats**

On recueille les crachats émis spontanément dans des flacons stériles, de préférence le matin au réveil, 3 jours de suite. Il est important d'obtenir des crachats d'origine bronchique et non salivaire. On peut au besoin avoir recours à l'expectoration provoquée par un aérosol de solutés salins ou après une séance de kinésithérapie.

- **Les tubages gastriques**

Ils sont réalisés au réveil, chez des sujets alités depuis la veille. Ils permettent de recueillir les sécrétions bronchiques dégluties pendant le sommeil et seront traités comme des crachats.

- **Les prélèvements sous fibroscopie bronchique**

Ils sont réalisés lorsque les crachats ou tubages gastriques ne permettent pas le diagnostic. Ce sont des aspirations bronchiques, des brossages bronchiques ou encore des liquides de lavage broncho-alvéolaire (Deschaseaux, 2005).

I.5.1.2 Mise en évidence des agents de la tuberculose

a) Examen microscopique

L'examen microscopique des crachats permet d'identifier de manière rapide et fiable les patients atteints de la tuberculose pulmonaire si la charge bacillaire est supérieure à 5000 bacilles/ml de crachat. La recherche directe de bacille tuberculeux est permise par la propriété d'acido-alcoolo-résistance du genre *Mycobacterium*. Deux colorations sont couramment utilisées : la coloration de Ziehl-Neelsen à chaud et la coloration à l'auramine.

- **La coloration spécifique de Ziehl-Neelsen (Fig 4)**

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. Les mycobactéries ou bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) conservent la coloration rouge vif de la fuchsine sur le fond bleu de la préparation ; les autres cellules et bactéries apparaissent en bleu. La lecture est cependant difficile et plus lente. L'observation se fait au microscope sous huile à immersion au grossissement x 100 révélant de BAAR rouges sur fond bleu.

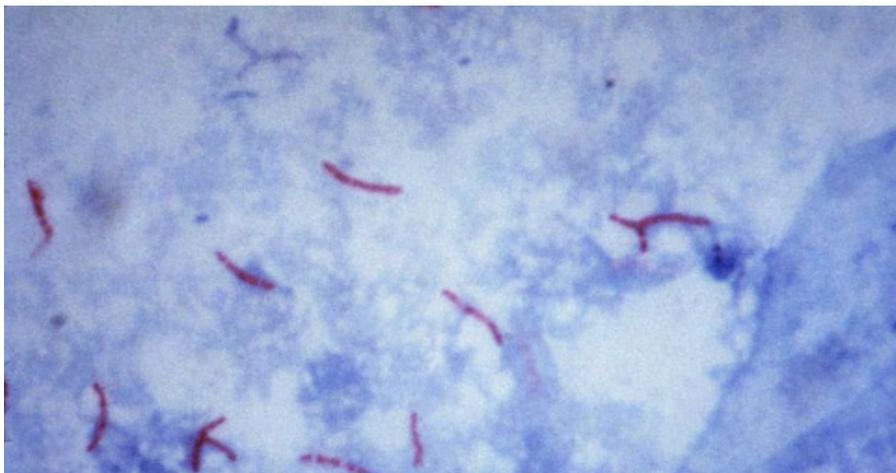


Figure 4 : Technique de coloration de Ziehl-Neelsen à chaud

Source : <http://syara-fadlah.blogspot.sn/2012/03/mycobacterium-tuberculosis.html>
consulté le 22 Juillet 2020

- **La coloration de fluorescence ou méthode de Degommier (figure 5)**

Plusieurs laboratoires ont remplacé la technique de Ziehl-Neelsen par celle de la coloration à l'auramine phéniquée, qui présente les mêmes propriétés que la fuchsine pour colorer les mycobactéries. L'observation est effectuée sur un microscope à fluorescence, à l'objectif x25, ce qui permet d'examiner la totalité du frottis en 5 minutes. Les mycobactéries sont colorées en jaune-vert brillants fluorescents sur fond rouge orangé.

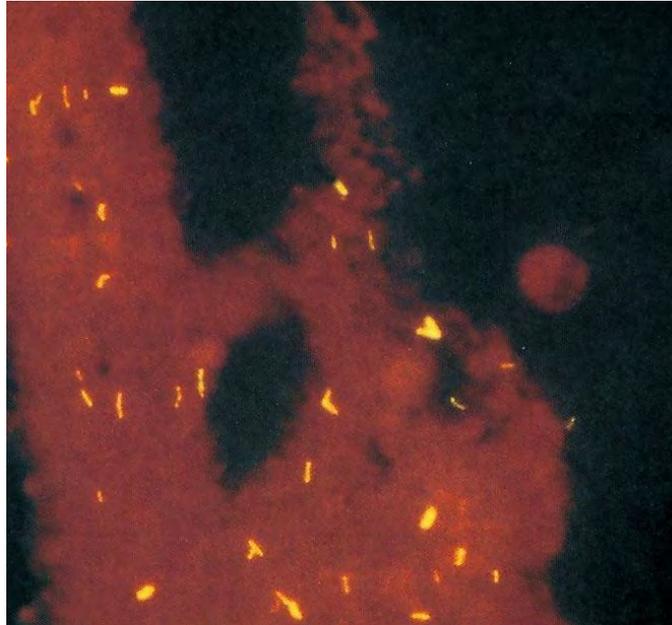


Figure 5 : Technique de coloration à l'auramine

Source : <https://www.institutpasteur.nc/latuberculose/>

Consulter le 12 Avril 2020

b) Culture bactérienne

Trois types de milieux peuvent être utilisés pour la culture de mycobactéries : milieu solide à base d'œuf ; milieu solide à base d'agar et le bouillon liquide. Les milieux solides sont faits pour être sélectifs pour les mycobactéries en ajoutant des antibiotiques. Les milieux non sélectifs, sur lesquels la croissance est plus rapide, sont disponibles au marché. La croissance est plus rapide dans 5% à 10% de dioxyde de carbone. Les bouillons de culture liquide ont besoin de 1 à 3 semaines d'incubation pour la détection d'organismes, par comparaison avec des milieux solides, qui nécessitent de 3 à 8 semaines. Cependant, les milieux solides permettent l'examen de la morphologie des colonies, la détection des cultures mixtes, et la quantification de la croissance. En outre, les souches occasionnelles de mycobactéries ne peuvent croître sur des milieux solides. Pour ces raisons, les experts suggèrent d'utiliser des milieux liquides et solides en conjonction avec l'inoculation d'au moins un milieu de culture solide (Benguedouar, 2016).

I.5.2 Diagnostic immunologique

I.5.2.1 Intradermo-réaction à la tuberculine (IDR)

L'Intradermo-réaction ou test de Mantoux a été le premier test mis au point pour le diagnostic immunologique de la tuberculose. Il consiste en l'injection intradermique d'un volume de 0,1ml de tuberculine, dérivé protéinique purifié (PPD), obtenu à partir d'un surnageant de culture de *M. tuberculosis*. La tuberculine contient plus d'une centaine d'antigènes communs à de nombreuses espèces mycobactériennes dont le *M. bovis* utilisé pour le vaccin B.C.G et toutes les mycobactéries environnementales ou non tuberculeuses (MNT). Ce test mesure la réponse *in vivo* d'hypersensibilité à médiation cellulaire, après injection intradermique de tuberculine. C'est une réaction inflammatoire locale tardive, de durée prolongée et caractérisée par la migration des cellules immunocompétentes vers les tissus contenant l'antigène : dans les heures suivant l'injection, il se produit un afflux de monocytes-macrophages, la formation de cellules géantes multinucléées et l'afflux d'un grand nombre de lymphocytes T CD4 mémoires spécifiques de la tuberculine (Costantino, 2010).

I.5.2.2 Test de libération d'interféron gamma

Ces tests reposent sur le principe selon lequel des lymphocytes T préalablement sensibilisés à des antigènes tuberculeux produisent des concentrations élevées d'interféron gamma en cas de réexposition aux mêmes antigènes mycobactériens. Le substrat antigénique utilisé initialement était la tuberculine, remplacée dans un deuxième temps par des antigènes plus spécifiques de *M. tuberculosis* : ESAT-6, CFP-10 et TB7. Ce dernier est beaucoup plus sensible et plus spécifique que l'IDR (PAI *et al.*, 2008). Ils existent deux types de tests commercialisés : QuantiFERON-TB® et tests T-SPOT.TB®.

➤ Le test Quantiféron est réalisé sur sang total, l'interféron (IFN) produit est dosé par une technique ELISA et le résultat est exprimé en unité internationale d'IFN par ml de plasma (UI/ml).

➤ Le test T-Spot.TB est réalisé sur cellules mononucléées isolées et ajustées à concentration précise, le nombre de cellules T spécifiques sécrétant de l'IFN est quantifié par une technique ELISpot et le résultat est exprimé en cellules formant des spots (SFC) par puits (Meier *et al.*, 2005).

I.5.3 Diagnostic moléculaire

I.5.3.1 Test basés sur l'amplification génique par PCR

Des tests réalisables à partir de cultures liquides ou solides permettent la détection, l'identification de nombreuses espèces mycobactériennes en trois étapes : une étape d'extraction d'ADN, une étape d'amplification par PCR de régions d'intérêt et une étape d'hybridation inverse.

□ Le test INNO-LiPA MYCOBACTERIA (Innogenetics) permet la détection des bactéries du genre *Mycobacterium* et l'identification de 16 espèces mycobactériennes différentes. L'amplification génique concerne la région codant l'espace 16S-23S de l'ARN ribosomal et l'identification se fait par hybridation inverse des produits de PCR avec des sondes d'ADN biotinylées et immobilisées sur des bandelettes.

□ Le test Hain (Life sciences) utilise lui aussi les principes de l'hybridation inverse mais l'amplification concerne des régions différentes en fonction de l'identification souhaitée : les sous-espèces du complexe *M. tuberculosis* (GenoType® MTBC), les mycobactéries atypiques communes (GenoType® Mycobacterium CM (Common Mycobacteria)) ou les autres mycobactéries atypiques (GenoType® Mycobacterium AS (Additional Species)) (Millet, 2011).

□ Le test Xpert MTB/RIF : Il s'agit d'une PCR en temps réel automatisée semi-quantitative permettant d'établir à la fois la présence de *M. tuberculosis* et des mutations les plus fréquentes du gène *rpoB* indiquant une résistance à la rifampicine en moins de 2 heures.

Ce test permet de réaliser, à la demande et dans une seule cartouche, les différentes étapes d'extraction, purification, amplification d'ADN, hybridation des sondes et détection multiplex. L'amplification génique cible la région de 81 pb du gène *rpoB*, qui code la sous-unité β de l'ARN polymérase et qui héberge les principales mutations responsables de la résistance à la rifampicine. Cette dernière est couplée avec cinq balises moléculaires ou probes (A, B, C, D, E de type « beacons ») qui se chevauchent le long de la séquence cible. L'utilisation du système Xpert MTB/RIF s'applique à des échantillons d'expectorations (y compris les pellets provenant de prélèvements décontaminés). Les études récentes sur l'évaluation de la performance diagnostique de ce test ont montré que la sensibilité par rapport à la culture était de plus de 98 % pour les prélèvements à microscopie positive mais de 68 % pour les prélèvements à microscopie négative (Steingart *et al.*, 2013). Le test Xpert MTB/RIF est actuellement la seule technique parvenue à maturité et il représente une nouvelle génération de plates-formes de diagnostic moléculaire automatisé (Timouyas, 2017).

I.5.3.2 Autres développements

Les tests immuno-chromatographiques : permettent la détection de l'Antigène MPT64, protéine uniquement sécrétée par les souches du MTbC (« S.D. BioLINE TB MPT64 Rapid », Standard Diagnostic et « Capilia TB Neo », Taunus laboratories). Utilisables à partir de colonies provenant de cultures sur milieu solide ou liquide, ils permettent une distinction rapide (en quelques minutes) entre les souches du MTbC et les mycobactéries atypiques, - Les tests de détection et d'identification des mycobactéries à partir de prélèvements biologiques : basés sur l'amplification d'ADN (COBAS® TaqMan® MTB Test, Roche Diagnostics) ou d'ARN (AMPLIFIED MTD®, Gen-Probe ; GenoType® Mycobacteria Direct, Hain Lifescience), ils permettent d'identifier les bactéries du MTbC dans les prélèvements à examen direct positif en quelques heures. Cependant, ces tests restent moins sensibles que la méthode de référence qui nécessite la mise en culture des prélèvements biologiques et seront donc principalement employés en première intention pour un nombre restreint de situations qui auront été préalablement définies (Millet, 2011).

I.6 Traitement de la tuberculose

I.6.1 Traitement prophylactique

L'injection du vaccin de bacilles de Calmette et Guérin (fabriqué à partir de bacille bovin vivant atténué par repiquages successifs en culture) permet à l'organisme d'acquérir une immunité contre le bacille de Koch équivalente à celle qui est obtenue après une primo-infection. La protection apportée par le BCG est de 50%. Les études effectuées dans de nombreuses régions du globe montrent que la vaccination par le B.C.G. des nouveau-nés et des enfants d'âge préscolaire permet, lorsqu'elle est bien pratiquée, de les protéger efficacement contre toutes les formes de la tuberculose infantile et spécialement contre les formes graves et parfois mortelles de la maladie (méningite ou miliaire tuberculeuse).

Toutefois, il ne protège pas de façon fiable contre la tuberculose pulmonaire, qui représente la plus grande part de la charge de la maladie dans le monde (Benguedouar, 2016).

I.6.2 Traitement curatif

Le traitement de la tuberculose est basé sur l'application d'une chimiothérapie basée sur l'association de plusieurs antibiotiques antituberculeux. La durée de cette chimiothérapie est actuellement de 6 mois et constitue « la chimiothérapie de courte durée ». Le régime 2SRHZ / 4RH (Ould Abbes, 2012), est un traitement standard qui fait appel aux antibiotiques dits de «

première ligne ». Il comporte une phase initiale intensive de deux mois avec administration quotidienne de streptomycine (S), rifampicine (R), isoniazide (H) et pyrazinamide (Z), qui est suivie d'une phase de continuation de quatre mois avec administration quotidienne de rifampicine et d'isoniazide.

- L'isoniazide et la rifampicine sont les plus puissants et représentent des médicaments majeurs, hautement bactéricides.

- La streptomycine est très active sur les bacilles extracellulaires qui se multiplient très rapidement.

- Le pyrazinamide est essentiellement actif sur les bacilles intracellulaires qui se multiplient lentement (Benguedouar, 2016).

Les médicaments de seconde intention utilisés pour le traitement des cas de tuberculose à bacilles résistants et multirésistants sont moins efficaces et plus coûteux (exemples : kanamycine, amikacine, capréomycine etc...)

I.6.3 Les mesures de prévention

D'après les estimations, un quart de la population mondiale serait infectée par le bacille tuberculeux. Ces personnes ne sont ni malades ni contagieuses. Cependant, elles risquent davantage de développer la tuberculose maladie, en particulier si leur système immunitaire est déjà affaibli. Le traitement préventif permettra d'empêcher qu'elles tombent malades tout en réduisant le risque de transmission dans la population générale. Ceci dit que toute une gamme d'approches novatrices pour renforcer l'accès au traitement préventif de la tuberculose est mise en place à savoir : intensifier le traitement préventif de la tuberculose parmi les populations les plus à risque, les personnes vivants avec le VIH, personnes avec une immunité réduite, dépister l'infection tuberculeuse par le test cutané à la tuberculine soit par le test de détection de l'interféron gamma etc.

Le traitement préventif est une intervention peu coûteuse qui peut empêcher les familles de sombrer dans la pauvreté et préserver la santé et l'économie de communautés entières. (www.who.mars 2020)

I.6.4 La vaccination

La vaccination par le BCG (Bacille de Calmette et Guérin) est le seul moyen de se protéger contre la tuberculose, elle est utilisée pour l'immunisation active contre la tuberculose. Elle limite le risque de développer l'infection et prévient les formes graves de la tuberculose chez les jeunes enfants. Son efficacité varie de 75 à 85% (<https://sante.avril> 2020)

I.7 Résistance du complexe tuberculeux aux antituberculeux

La propagation de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques est une des menaces les plus sérieuses pour le traitement efficace d'une maladie et constitue un problème majeur de santé publique. Selon l'OMS (2015), la tuberculose multirésistante (TB-MR) est une forme de tuberculose causée par un bacille qui résiste à au moins l'isoniazide et la rifampicine, les 2 médicaments antituberculeux de première ligne (ou standard) les plus efficaces. La tuberculose multirésistante résulte avant tout d'un traitement inadapté. L'utilisation inappropriée ou incorrecte des antituberculeux, ou l'utilisation de médicaments de médiocre qualité, peuvent entraîner une résistance aux médicaments. Dans certains cas, une résistance encore plus grave aux médicaments peut se développer. La tuberculose ultrarésistante, TB-UR, est une forme de tuberculose multirésistante qui répond à un nombre encore plus restreint de médicaments disponibles, y compris les médicaments antituberculeux de seconde ligne les plus efficaces (Rapport mondial sur la tuberculose, 2013).

I.7.1 Résistance naturelle

Certaines espèces présentent une résistance naturelle ou intrinsèque à un ou plusieurs antibiotiques. Les informations qui codent ce comportement habituel d'une souche font partie du patrimoine génétique de l'espèce. Les mycobactéries du complexe tuberculeux sont naturellement résistantes aux principales familles d'antibiotiques comme les β -lactamines, les macrolides, les cyclines, les sulfamides et les glycopeptides. Les mycobactéries non-tuberculeuses présentent également une résistance naturelle à ces antibiotiques usuels. La faible perméabilité de la paroi mycobactérienne est, en général, mise en cause pour expliquer le haut niveau de résistance naturelle des mycobactéries. La structure de la paroi n'est pas la seule responsable de la haute résistance naturelle de *M. tuberculosis*. La production d'enzymes modifiant les antibiotiques a également été décrite chez *M. tuberculosis* comme, par exemple, la β -lactamase responsable de la résistance naturelle aux β -lactamines ou l'aminoglycoside 2'-N-acetyltransferase impliquée dans la résistance aux aminoglycosides (Mathys, 2010).

I.7.2 Résistance acquise

Contrairement aux autres bactéries pathogènes qui acquièrent en général leur résistance aux antibiotiques par transfert horizontal de plasmides ou transposons portant des gènes de résistance, l'acquisition de résistance chez *M. tuberculosis* provient, presque toujours, d'altérations spontanées de gènes chromosomiques spécifiques sous la forme de mutations

ponctuelles non-synonymes, de délétions ou insertions. En effet, aucun plasmide ou transposon de résistance n'a été décrit chez les mycobactéries. Par conséquent, la résistance n'est pas transférable entre les mycobactéries présentes chez un même patient, mais elle se transmet à toute la descendance de la bactérie mutée (Mathys, 2010).

Les mutations impliquées dans la résistance de *M. tuberculosis* aux antibiotiques ont été mises en évidence :

- ✓ dans les gènes codant les protéines cibles de l'antibiotique, diminuant l'affinité de la cible pour cet antibiotique (Rifampicine, Éthambutol, Fluoroquinolones,).
- ✓ dans un gène codant une enzyme impliquée dans l'activation de l'antibiotique, empêchant son passage de la forme pro-drogue à la forme active (Isoniazide, Pyrazinamide,).
- ✓ dans une région génomique régulatrice provoquant la surexpression de la cible de l'antibiotique.

Les altérations génétiques responsables des différents types de résistances aux antibiotiques chez *M. tuberculosis* ont été en partie définies pour plusieurs antibiotiques, de première et seconde ligne, utilisés communément (Mathys, 2010).

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1 Cadre de l'étude

L'Hôpital Principal de Dakar (HPD) est un Établissement Hospitalier Militaire (EHM), créé en Août 1884 après la fermeture de l'hôpital de Gorée soupçonné d'entretenir le risque épidémique suite à la tragique épidémie de fièvre jaune de 1878 qui frappa Gorée et Dakar, puis Rufisque et Saint-Louis (Fadiga, 2008). C'est un établissement public de santé à statut spécial ouvert au service public, il constitue selon sa devise un hôpital de référence en perpétuelle mutation. Il est composé de la fédération de laboratoire et des nombreux services à savoir, les services médicaux, les services chirurgicaux et les services médicotechniques.

L'étude s'est déroulée au service de biologie de la fédération des laboratoires de l'hôpital Principal, plus particulièrement au niveau du secteur « Microbiologie ».

II.2 Type et période de l'étude

Il s'agit d'une étude prospective, transversale de type descriptif menée sur une période d'un (1) an allant de 14 Juin 2019 au 14 Juin 2020.

II.3 Population d'étude

II.3.1 Critères d'inclusion

Les malades inclus dans cette étude sont ceux qui ont bénéficié à la fois d'un examen classique de crachats et d'un test GeneXpert MTB/RIF sur un prélèvement pulmonaire suspect.

II.3.2 Critères de non inclusion

N'ont pas été inclus dans l'étude les patients faisant l'objet d'une recherche de localisation tuberculeuse autre que pulmonaire. Ou ceux du premier groupe présentant des dossiers incomplets ou des doublons.

II.4 Recueil des données

Le recueil des données a été réalisé à l'aide de formulaires de collecte de renseignements biologiques. Les aspects sociodémographiques : service hospitalier, âge, sexe, origine ont été pris en compte.

II.5 Saisie et analyses des données

La saisie a été faite sur Excel version 2010, et l'analyse des données et les tests statistiques ont été réalisés via le logiciel SPSS full version 2018 v25. Le test statistique effectué est le test de pourcentage ou proportion (χ^2). Le seuil de significativité du test a été fixé à une P -value inférieur à 5%.

II.6 Matériels et réactifs

II.6.1 Matériels

➤ Pour la coloration de Ziehl Neelsen, le matériel utilisé est le suivant:

Anse pour étalement, bec Bunsen, blouse, boîte de lames gravées pour les frottis, crachoir, crayon, gants, minuterie, microscope optique, séchoir pour les lames, porte-lames pour la préparation des frottis, pince sans griffes, poubelle métallique avec couvercle, portoir pour assécher les frottis, pissettes contenant les colorants et l'eau de rinçage.

➤ Le GeneXpert

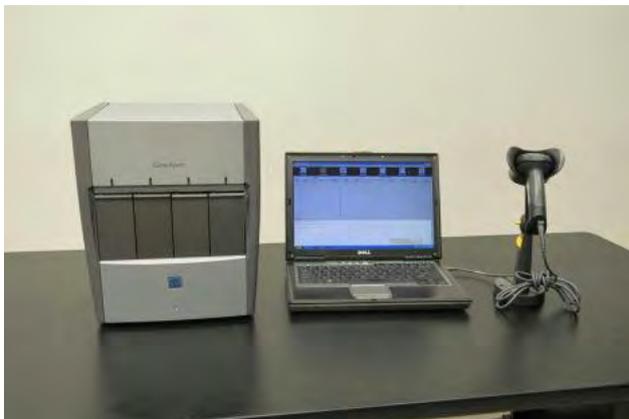


Figure 6 : Le GeneXpert MTB/RIF

C'est un automate (système GeneXpert) (Fig.6) composé d'un nombre variable de modules, d'un ordinateur dédié, d'un lecteur de codes-barres (scanner), des flacons stériles pour le recueil des échantillons, d'un logiciel préinstallé pour effectuer des tests sur des échantillons prélevés et qui utilise des cartouches à usage unique renfermant les réactifs lyophilisés, les tampons et les solutions de rinçage. La détection et la caractérisation de la cible se font en temps réel à l'aide d'un dispositif laser à six couleurs.

II.6.2 Réactifs

Nous avons utilisé du bleu de méthylène de la solution d'alcool acide sulfurique, de solution de fuchsine phénique, d'eau distillée, d'eau de javel, d'hydroxyde de sodium et isopropanol.

II.7 Méthodologie :

Tous les patients faisant l'objet d'une prescription pour une recherche de BK au niveau pulmonaire font l'objet d'un prélèvement qui est acheminé au laboratoire.

II.7.1 Prélèvements

Au cours de notre étude, les échantillons de crachats étaient recueillis par le malade lui-même après un effort de toux selon les directives du guide technique du programme national de lutte contre la tuberculose (PNT, 2015). Pour les patients hospitalisés, le prélèvement est effectué sous la supervision d'un infirmier, dans des crachoirs. En attendant d'être acheminés, ces échantillons étaient systématiquement conservés au réfrigérateur entre +4 et +8°C pour minimiser le risque de prolifération des germes banaux.

II.7.2 Analyse des échantillons et description des procédures

II.7.2.1 Examen microscopique

□ La coloration spécifique de Ziehl-Neelsen

- ✓ Étapes de la confection du frottis : D'abord on inscrit le numéro de série du malade suivi du numéro d'ordre de l'échantillon (1 ou 2) sur la plage de la lame. Ensuite, on étale la goutte d'expectoration en choisissant une parcelle muco-purulente sur la lame (1cm / 2cm) à l'aide d'une anse de platine stérile. Puis, on décharge l'anse de platine dans un bocal contenant de l'alcool à 70° après chaque étalement avant de flamber l'anse.
- ✓ Séchage : On laisse sécher le frottis pendant 15 min au moins, sous la hotte.
- ✓ Fixation : Pour fixer les frottis, on les dépose sur la plaque chauffante.
- ✓ Étapes de la Coloration :
 - On place d'abord les lames sur le pont de coloration
 - On recouvre la lame de la solution de fuchsine qui colore les bacilles en rouge
 - On chauffe doucement la lame jusqu'à émission de vapeurs
 - On laisse agir la solution chaude et fumante de fuchsine phénique pendant 5 min
 - On décolore à l'alcool-acide pendant 3 min et on rince avec l'eau
 - On recolore avec le bleu de méthylène, pendant 5 min afin de rincer les lames à l'eau

✓ Lecture :

- Enfin, on examine le frottis au microscope au grossissement (x100) à l'aide d'huile à immersion.

II.7.2.2 Le test GeneXpert

Le test d'identification du *Mycobacterium tuberculosis* et de la détection de la résistance moléculaire à la RIF a été effectué en utilisant le GeneXpert MTB/RIF.

➤ Procédure

- Sous la hotte nous avons versé 2 volumes de réactif pour un volume d'échantillon (crachat direct ou une partie du sédiment d'un échantillon concentré) ou 0,5 ml pour 1,5 ml de culot décontaminé.
- Nous avons agité le mélange ensuite nous l'avons laissé reposer pendant 10 min et de nouveau nous l'avons agité puis l'avons laissé reposer pendant 5min
- Sur la paillasse, pendant les 5 mn d'attente, nous avons déballé la cartouche en faisant attention à la partie PCR.
- Nous avons Marqué le nom sur le côté de la cartouche et ouvert son couvercle.
- A l'aide de la pipette, nous avons prélevé 2 ml d'échantillon liquéfié ou 2 ml de culot décontaminé avec le réactif que nous avons déposé dans la chambre de la cartouche.
- La lecture du code-barres de la cartouche a été faite à l'aide d'un scanner.
- La cartouche a été posée dans le module dont le voyant vert clignote et on ferme la porte
- Dès que le test démarre, le voyant vert cesse de clignoter.
- La durée du test est de 1 heure et 52 min.
- Le voyant s'éteint quand le test est terminé
- Le résultat s'affiche sur l'ordinateur personnel.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Résultats

III.1.1 Population d'étude

Au total, 1560 patients avec une présomption de Tuberculose pulmonaire ont été évalués grâce à un examen microscopique de crachat dont seulement 145 ont fait l'objet d'examen à la fois de la microscopie et du test Xpert à l'hôpital Principal de Dakar.

III.1.2 Description de la population d'étude

III.1.2.1 Aspects épidémiologiques

III.1.2.1.1 Répartition des patients examinés selon le sexe

Sur les 145 patients suspectés de tuberculose pulmonaire ayant fait l'objet simultanément d'examen à la coloration de Ziehl-Nelson et de PCR avec le GeneXpert MTB/ RIF, 102 (70%) étaient des hommes et 43 (30%) des femmes (Fig. 7), ce qui correspond à sexe-ratio de 2,3. Les tests statistiques effectués montrent une différence significative en faveur des hommes avec ($\chi^2 = 8.8291$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.003$).

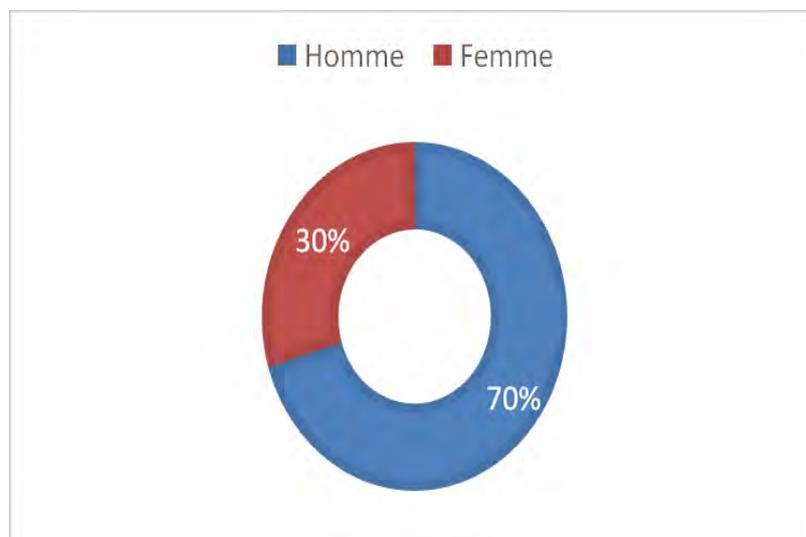


Figure 7 : Répartition des patients dépistés selon le sexe

III.1.2.1.2 Répartition des patients examinés selon l'âge

L'âge moyen des patients était de 45,17ans avec des extrêmes allant de 18 jours à 91 ans. Les tranches d'âge prédominantes étaient celles comprises entre [45-60] (27%), suivies de celle [30-45] (24%) et la tranche d'âge [15-30] avec (18%) Fig.8. Les tests statistiques effectués ne révèlent pas de différences significative $\chi^2= 1.3207$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.2505$ ($P\text{-value} > 5\%$)

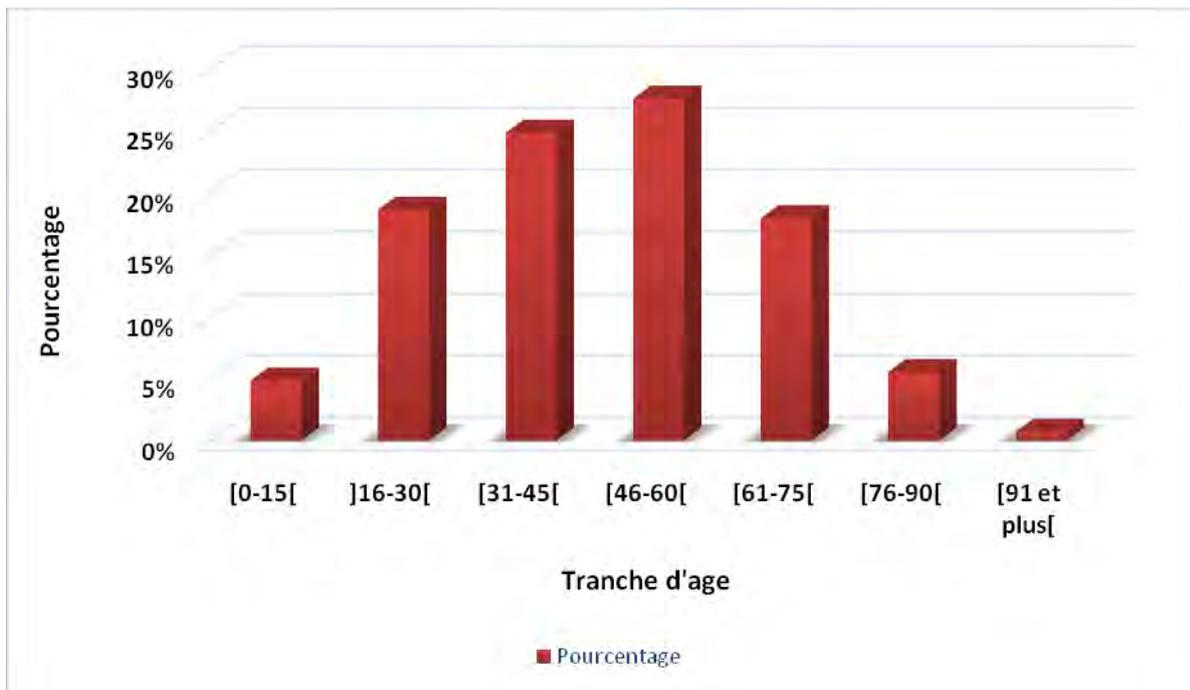


Figure 8 : Répartition des patients selon les tranches d'âge

III.1.2.1.3 Répartition des patients examinés selon le département

La majorité des échantillons provenaient du département de Médecine soit 80 cas (54%) suivi par les externes 47 cas (32%), la Pédiatrie 8 cas (6%) et la Réanimation 8 cas (6%) et enfin la chirurgie avec 2 cas (2%), (Fig. 9).

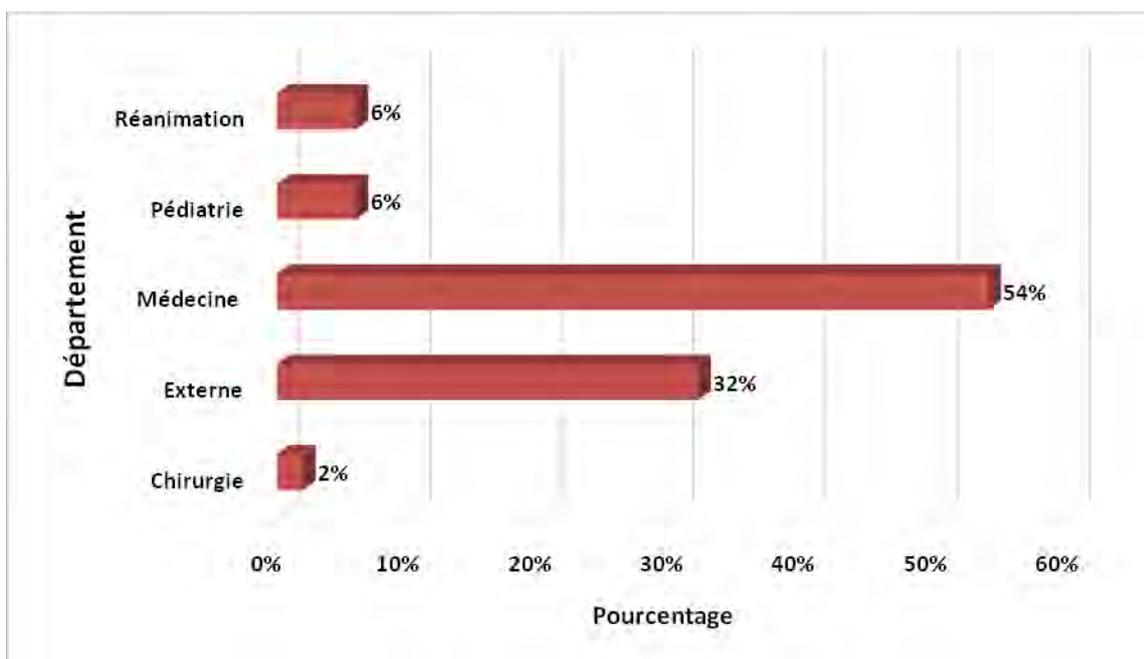


Figure 9 : Répartition des patients selon le département

III.1.2.2. Aspects cliniques

Dans notre étude la toux chronique suspecte de tuberculose était le principal motif de demande de test Xpert MTB/RIF avec 136 cas (94%), suivi de l'échec thérapeutique avec 4 cas (3%), de la co-infection TB-VIH avec 3 cas (2%) et de la rechute avec 2 cas (1%) (Fig 10)

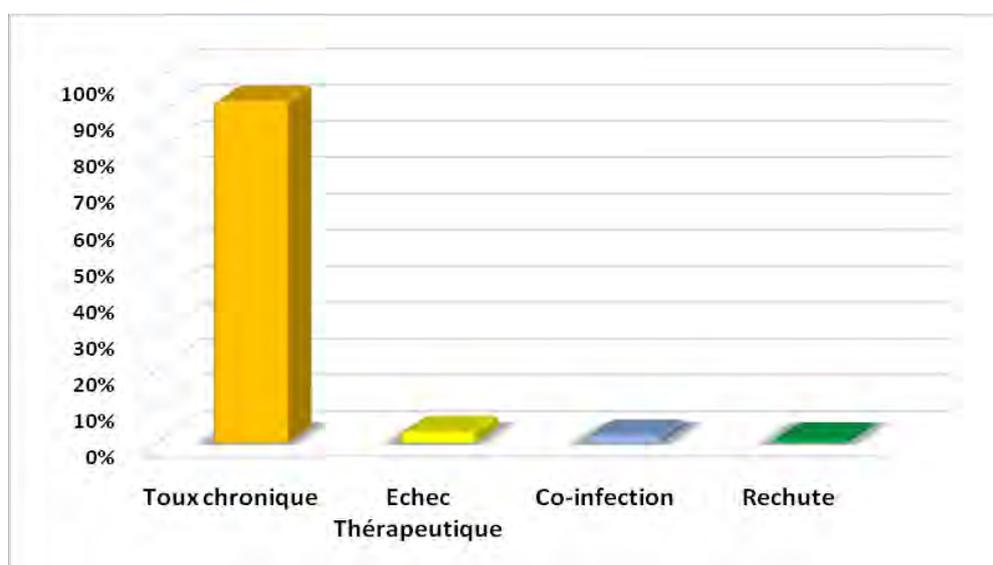


Figure 10 : Répartition des patients selon le motif du test MTB/RIF

III.1.2.3 Aspects bactériologiques

III.1.2.3.1 Nature du prélèvement

Les échantillons examinés étaient en majorité des liquides de lavages broncho-alvéolaire (LBA) avec 69 cas (48%) suivis des expectorations avec 58 cas (40%) et des tubages gastriques avec 18 cas (12%) (Tableau I). Les analyses statistiques montrent une différence significative en faveur du lavage broncho-alvéolaire $\chi^2= 7.0343$, $df = 1$, $p\text{-value}=0,007$.

Tableau I : Nature de prélèvement étudié

Nature de l'échantillon	Nombre	Pourcentage
EXPECTORATION	58	40%
LBA	69	48%
TUBAGE	18	12%

Total	145	100%
--------------	------------	-------------

III.1.2.3.2 Résultats d'examen microscopique direct

Dans notre étude, la recherche de Bacilles alcool-résistants (BAAR) par la méthode de microscopie directe de Ziehl-Neelsen a permis de détecter 12 cas positifs (8%) et 133 cas négatifs (92%) (Fig.11)

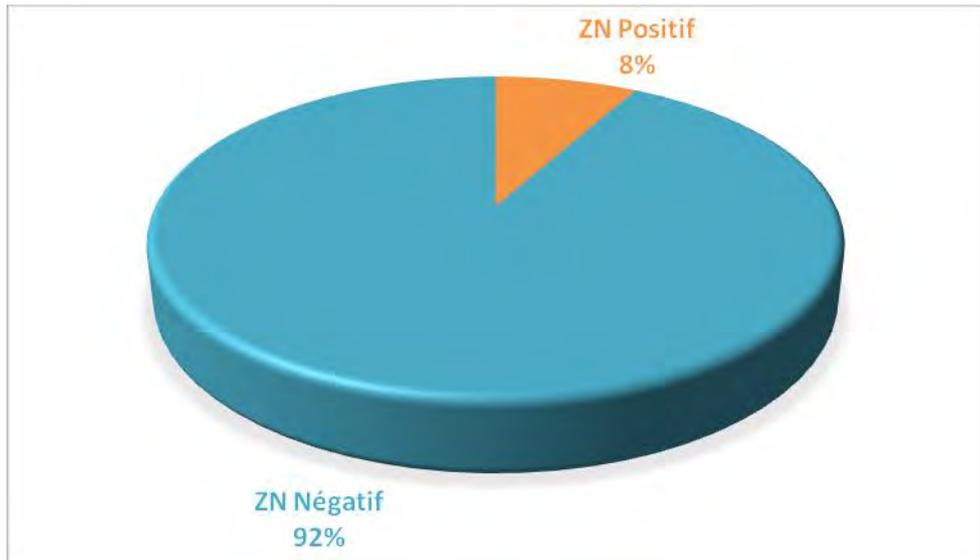


Figure 11 : Répartition des patients selon l'examen Microscopique direct

III.1.2.3.3 Résultats du GeneXpert

L'identification du complexe *Mycobacterium tuberculosis* par l'étude moléculaire a permis de trouver 36 isolats MTB (soit 25%) et 109 (soit 75%) non détectés suggérant une infection par une mycobactérie non tuberculeuse (MNT) ou un faux négatif (Fig.12)

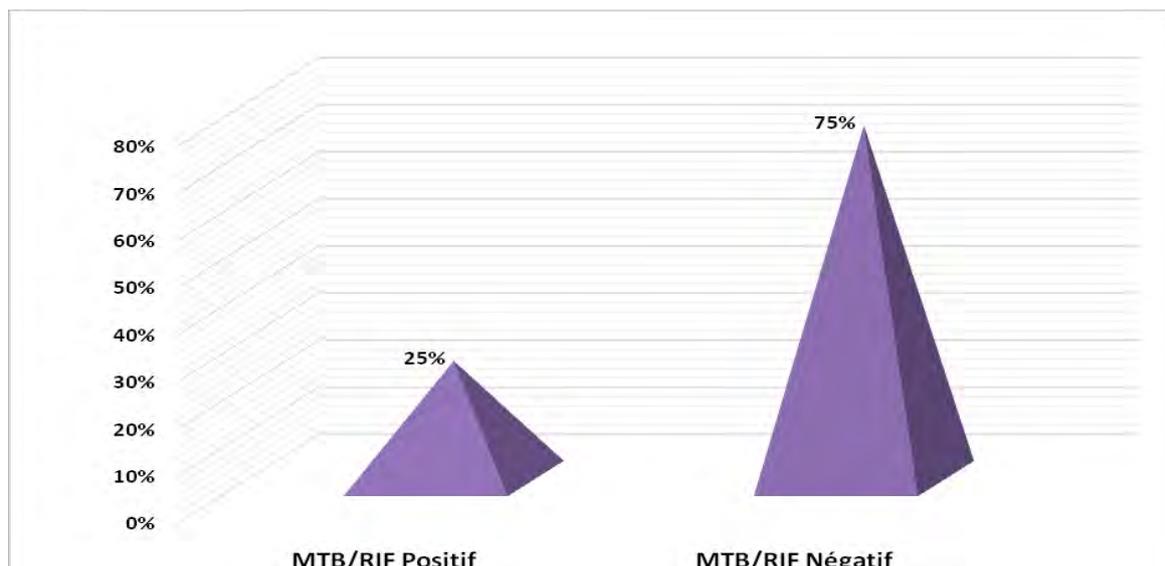


Figure 12 : Répartition des patients selon le GeneXpert

III.1.2.3.4 Comparaison entre l'examen microscopique et le GeneXpert

D'après nos résultats il ressort que parmi les 36 patients positifs au GeneXpert MTB/RIF seuls 11 (30,55%) étaient Ziehl-Neelsen positifs versus 25 (69,44%) qui étaient négatifs au Ziehl-Neelsen. Et parmi les 109 patients négatifs aux GeneXpert 107 (98,16%) étaient également négatifs au Ziehl-Neelsen (Tableau II). Les analyses statistiques montre une différence significative en faveur du GeneXpert avec une $P\text{-value} = 0,0003$

Tableau II : Comparaison entre l'examen microscopique et le GeneXpert

	Ziehl-Neelsen		Total général
	Négative	Positive	
GeneXpert Négative	107	2	109
GeneXpert Positive	25	11	36
Total général	132	13	145

III.1.2.4 Prévalence et répartition des cas positifs selon les tranches d'âge et le sexe

III.1.2.4.1 Prévalence de la tuberculose pulmonaire

Dans notre étude la tuberculose pulmonaire a été confirmée par le GeneXpert et le Ziehl-Neelsen chez 34 patients soit une fréquence de 23%.

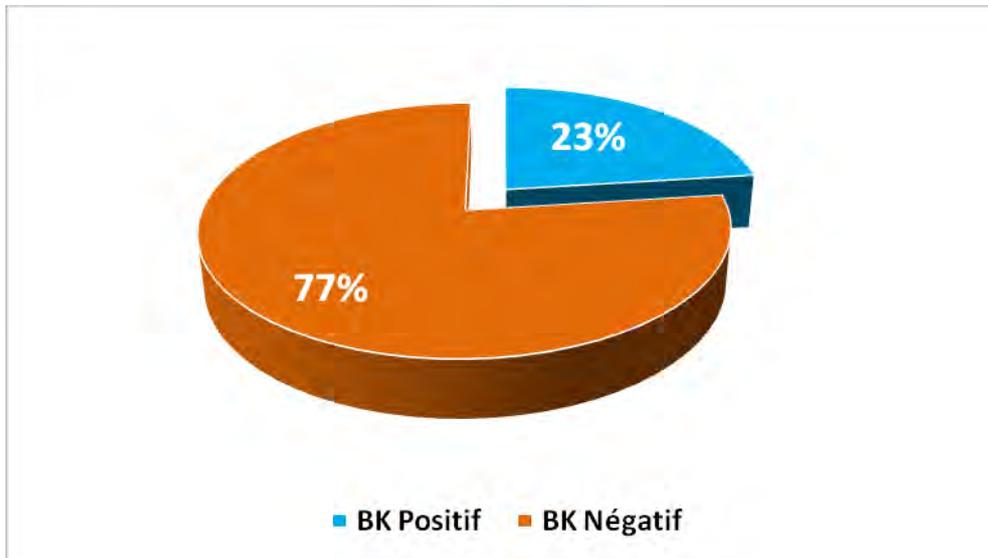


Figure 13 : Répartition de la prévalence de la tuberculose

III.1.2.4.2 Répartition des cas positifs en fonction du sexe

Les hommes prédominent avec 76% (n=26) de la population atteinte de la tuberculose, versus 24% (n=8) pour les femmes avec un sex-ratio de 3,25 (Fig 14).

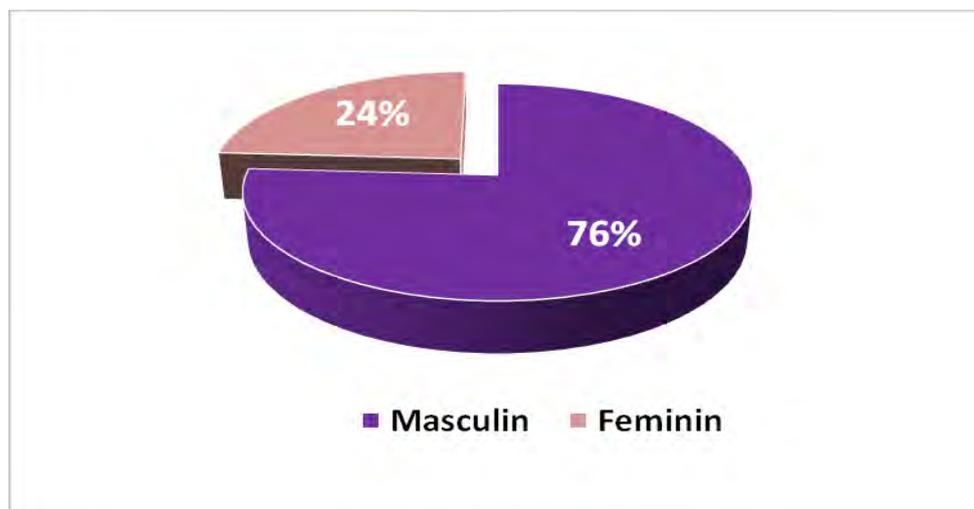


Figure 14 : Répartition du nombre de cas positifs en fonction du sexe

III.1.2.4.3 Répartition des cas positifs selon les tranches d'âge

Dans notre étude la tranche d'âge la plus touchée par la tuberculose est celle comprise entre 45 à 60 ans, avec une moyenne de 45,17ans (Fig 15)

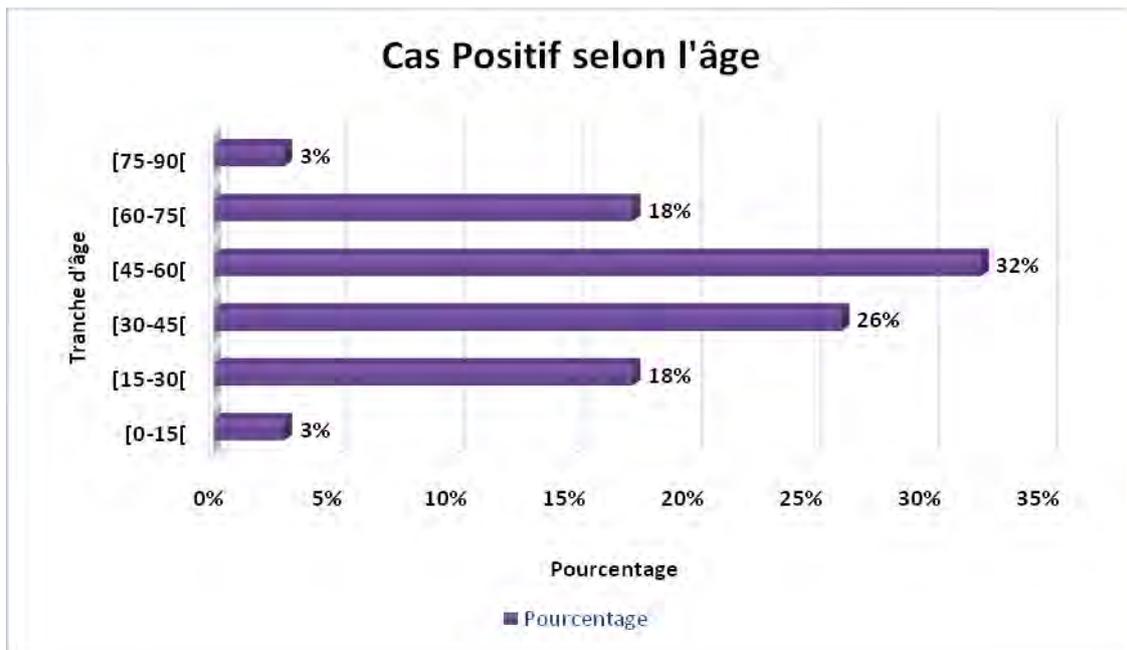


Figure 15 : Répartition du nombre de cas positifs selon les tranches d'âge

III.2 Discussion

La tuberculose reste encore un problème de santé publique dans les pays à ressources limitées. Son impact est d'autant plus grave que les méthodes de diagnostic sont généralement peu performantes et reposent essentiellement sur la microscopie qui présente de nombreuses limites d'où le succès qui a suivi l'introduction assez récente du GeneXpert. Notre présente étude consistait à apprécier les performances de ce dernier en comparaison avec la microscopie au Ziehl-Neelsen. Notre cohorte a porté sur 145 patients dépistés pour la tuberculose pulmonaire et la résistance à la Rifampicine dont 34 patients présentant une tuberculose pulmonaire soit une prévalence de 23%.

La prévalence de la tuberculose trouvée dans le présent travail est en parfait accord avec celle rapportée par d'autres auteurs. Notamment Zeka *et al.* en Turquie en 2011 avec 26%, Gounder *et al.* en 2014 ont noté sur un échantillon de 415 patients suspects, une prévalence de la tuberculose de 18,7% aux Fiji. Cependant, la fréquence élevée peut être le fait d'un biais de sélection. En effet, le Genexpert était recommandé pour les patients présentant une forte présomption de tuberculose résistante au traitement. Des contextes comme la promiscuité, la malnutrition, le manque d'hygiène et tant d'autres sont aussi des facteurs de risque pour contracter la tuberculose (Benguedouar, 2016).

Durant notre étude, l'atteinte masculine était la plus manifeste, soit 76% avec un sex-ratio de

3,2 en faveur des hommes. Nos résultats corroborent ceux d'Assao Neino *et al.* en 2018 à Niamey (Niger) qui ont trouvé 76,2% pour l'atteinte masculine avec un sex-ratio de 3,2. Cette prédominance masculine pourrait s'expliquer par la position de l'homme dans nos sociétés africaines. En effet, le rôle social de l'homme en tant que pilier de la famille lui impose de travailler, d'être plus volontiers en contact avec l'extérieur, ce qui facilite la contamination.

La tuberculose semble toucher autant de jeunes que de vieux. Dans notre série la tranche d'âge entre [45-60] représentait 76% des cas, l'âge moyen étant de 45,17. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Bouheraoua (2010) dans sa thèse pour le diplôme d'état portant sur la tuberculose avec un âge moyen de 44 ans.

En fait cette prévalence de la tuberculose au sein de la population adulte jeune peut être expliquée par le fait que cette dernière possède plus d'interactions avec le milieu extérieur et donc avec les sources potentielles de contamination.

Parmi les 145 échantillons examinés, le génome de *Mycobacterium tuberculosis* a été détecté dans 36 cas soit 25% parmi lesquels 11 (8%) étaient positifs à l'examen microscopique de Ziehl-Neelsen. Les tests statistiques réalisées montrent qu'il existe une différence significative de la positivité plus élevée (25% vs 8% ; $p=0,003$) du GeneXpert MTB/RIF par rapport au Ziehl-Neelsen. Nos résultats corroborent ceux rapportés par d'autres auteurs notamment Lupande *et al.* (2017) en République Démocratique du Congo (15,9% vs 9,3% ; $p = 0,003$), DIOP *et al.* (2016) à Dakar (25% vs 6%), ZEKA *et al.* (2010) en Turquie prévalence avec 26%, Boehme *et al.* (2010) avec 27% et BATES *et al.* (2010) avec 26% en Afrique Sub-saharienne.

Vingt-cinq (25) des 132 cas examinés par la méthode de Ziehl-Neelsen en microscopie se sont révélés des frottis négatifs alors qu'ils ont été positifs avec le test Xpert MTB/RIF. Ainsi le couple ZN/MTB RIF a permis de détecter plus de cas de TB que le ZN seul. D'autres auteurs ont rapporté des résultats similaires (Carniel *et al.*, 2014) en Amazonie.

Enfin, durant notre étude, l'utilisation du GeneXpert *MTB / RIF* n'a permis de détecter aucun cas de Résistance à la Rifampicine, marqueur de la prédiction de la multirésistance pour la tuberculose.

La sensibilité et spécificité du Genexpert dans le diagnostic de la Tuberculose ont été évalués dans plusieurs études avec néanmoins des résultats variables. Les résultats de notre étude ont révélé que tous les échantillons inclus, le Genexpert a une sensibilité de 94.74% contrairement à la microscopie qui n'a détecté que 43.86% des souches de *mycobacterium tuberculosis*.

Ce qui fait que le Genexpert est l'outil le plus performant que la microscopie dans le diagnostic de la tuberculose.

La culture du complexe *Mycobacterium tuberculosis* n'était pas faisable dans le laboratoire de Bactériologie durant notre stage, ce qui n'a pas permis de l'utiliser comme examen de référence dans la présente étude.

CONCLUSION, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS

La tuberculose est une maladie contagieuse, et curable due à une mycobactérie (*Mycobacterium tuberculosis*) ou bacille de Koch. Elle demeure un problème de santé dans le monde suite à l'émergence de souches multirésistantes voire ultrarésistantes. Notre étude a porté sur 145 patients suspectés de tuberculose dont 36 étaient positifs avec une prévalence globale de 25% un sex-ratio de 2,3 en faveur des hommes et une prédilection de la tuberculose chez les adultes. Nous avons noté aussi une performance significativement plus élevée du GeneXpert MTB /RIF par rapport à la coloration de ZN dans la détection de la tuberculose. Ainsi donc l'utilisation systématique du GeneXpert couplé au Ziehl-Neelsen permettrait de mieux contrôler la TB à l'Hôpital Principal de Dakar.

Compte tenu du nombre assez limité d'échantillons étudiés et du temps imparti relativement restreint du à la pandémie du Coronavirus (COVID 19) qui nous a frappé de plein fouet, il serait souhaitable dans le futur d'étaler ce type d'étude dans le temps en y incluant les données de la culture, d'antibiogramme et d'autres tests de biologie moléculaire afin de pouvoir tirer des conclusions plus pertinentes.

Au terme de notre étude nous formulons des recommandations qui s'adressent respectivement :

➤ Aux populations

- Une bonne observance du traitement y compris des règles d'hygiène de vie ;
- Un recours à une consultation médicale devant les effets indésirables des médicaments antituberculeux
- Un dépistage précoce et massif pour détecter et traiter les patients positifs au TB.

➤ A la communauté

- Orienter toute personne présentant des signes d'appel de la tuberculose ;
- Assurer un accompagnement psychosocial de tous les malades tuberculeux ;
- Accompagner le malade par la prise supervisée des médicaments antituberculeux.

➤ Au Programme National de Lutte contre Tuberculose (PNT)

- Procéder au contrôle de la réponse vaccinale au BCG ;
- Renforcer les laboratoires en bacilloscopie du BK par la mise en place des milieux de culture adaptés afin de lui permettre de jouer son rôle d'appui technique pour le reste du réseau de dépistage et à la prise en charge correcte des cas de résistance
- L'utilisation systématique du GeneXpert couplé au Ziehl-Neelsen pour mieux contrôler la tuberculose

Références bibliographiques

1. **Agba, E.** (2009). La tuberculose extrapulmonaire à la clinique des maladies Infectieuses du CHNU de FANN : Aspects épidémiologiques, cliniques, paracliniques et évolutifs. Thèse de Médecine, FMPO, UCAD, Dakar, 175 p.
2. **Bates, M., O'grady, J., Maeurer, M., Tembo, J., Chilukutu, L., Chabala, C., Kasonde, R., Mulota, P., Mzyece, J., Chomba, M., Mukonda, L., Mumba, M., Kapata, N., Rachow, A., Clowes, P., Hoelscher, M., Mwaba, P., Zumla, A,** (2013). Assessment of the Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis with gastric lavage aspirates in children in sub-Saharan Africa: a prospective descriptive study, *The Lancet Infectious Diseases*; 13(1):36-42.
3. **Bemba, E., Bopaka, R., Moyikoua, R., Ossibi-Ibara, R., Ebenga-Somboko, N., Toungou, N., Matondot, P., Ossale-Abacka, B., Okemba-Okombi, F., Mboussa, J,** (2016). Pulmonary tuberculosis among hospitalized patients in Brazzaville: impact of late diagnosis of HIV infection on radiographic abnormalitie. *Pan.Afr.Med*, 24:259
4. **Bendadda, O.** (2003). Tuberculose humaine à *Mycobacterium bovis* enquête bactériologique et application de la PCR à la détection et l'identification du complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Thèse de doctorat. FSDM, Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Maroc, 169p.
5. **Benguedouar, A.** (2016). Diagnostic bactériologique. Étude prospective de trois mois au CHU Benbadis Constantine. Mémoire de Master, FSNV, Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, 67p.
6. **Blakemore, R., Story, E., Helb, D., Kop, J., Banada, P., Owens. M** (2010). Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF Assay. *J. Clin.Microbiol*, 48(7): 2495–501.
7. **Boehme, CC., Nabeta, P., Hillemann, D., Nicol, Mp., Shenai, S., Krapp, F., Allen, J., Tahirli, R., Blakemore, R., Rustomjee, R., Milovic, A., Jones, M., O'brien, SM., Persing, DH., Ruesch-Gerdes, S., Gotuzzo, E., Rodrigues, C., Alland, D., Perkins, MD,** (2010). Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin Resistance. *N. Engl. J. Med*, 363(11):1005–1015
8. **Bouhearoua, H.** (2013). La tuberculose en 2011-2012 dans le service de Médecine de l'établissement public de santé national de fresnes (EPSNF). Thèse de Doctorat en médecine, FM, Paris 7, Université PARIS DIDEROT, France, 127p.
9. **Boushab, B.M., Savadogo, M., & Sow, M.S.** (2016). Prévalence de la Tuberculose pulmonaire à bacilloscopie positive dans un centre hospitalier d'Aïoun (Hodh EL Garbi). *Pneumologie Clinique*, 72(4) : 243-247.

10. **Carbonelle B., Dailloux M., Lebrun L., Maugein J. Et Pernot C.,** 2003. Biologie Médicale. Mycobactéries, Mycobactérioses. *Cahier de Formation*, 29 : 158 p.
11. **Carniel, F., Dalla, ER., Lima-Bello, G., Martins, C., Scherer, LC., Rossetti, ML,** (2014). Use of conventional PCR and smear microscopy to Diagnose pulmonary tuberculosis in the Amazonian rainforest area. *Braz. J. Med. Biol. Res*, 47(12) : 1016-20.
12. **Chaoui, I.** (2014). Caractérisation moléculaire des souches de *Mycobacterium tuberculosis* circulantes au Maroc : Etude de la résistance aux antituberculeux de première et deuxième ligne et biodiversité génétique. Thèse de Biologie, Université Mohammed V-Agdal, Rabat, 245 p.
13. **Chiali, A.** (2014). Apport de la réaction de la polymérisation en chaîne (PCR) dans le diagnostic de la tuberculose cutanée. Thèse de médecine. FM, Alger, Université d'Oran, Algérie, 241p
14. **Cosivi O., Meslen F.X., Daborne C.J. AND Grange J.M.** (1995): Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in animals and humans, with particular Reference to Africa. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 14 : 733-746
15. **Costantino, F.** (2010). Diagnostic de tuberculose latente chez des patients atteints de rhumatisme inflammatoire chronique candidats à une biothérapie : facteurs influençant le résultat d'un test de libération d'interféron gamma (t-spot. Tb ®). Thèse de Médecine, Université Henri Poincaré Nancy, 179 p.
16. **Coulibaly, A.** (2011). Etude descriptive des cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive dans le district sanitaire de Selingue du 1er juillet 2009 au 30 juin 2010. Thèse de médecine. FMPO, Bamako, Université de Bamako, Mali, 116p.
17. **Deschaseaux, C.** (2005). Epidémiologie moléculaire de la tuberculose : étude des souches de *Mycobacterium tuberculosis* par la technique IS6110-RFLP. Thèse de Doctorat en pharmacie, FP, Nancy, Université Henri POINCARE, France, 137p
18. **Diande, S.** (2010). Evaluation de la résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux Antibiotiques et exploration des facteurs de risque associés à la multirésistance au Burkina-Faso. Thèse de doctorat. UFR-SVT, Ouagadougou, Université de Ouagadougou, Burkina-Faso, 113 p.
19. **Diop, S., Massaly, A., KA, D., Manga, N., Fortes-Déguénonvo, L., Ndour, C.T, Cisse, V.M., Seydi, M,** (2016). Use of genexpert test for the Diagnosis of tuberculosis in the department of infectious diseases of FANN University Hospital. *Pan.Afr. Med*, 23 :244
20. **Fadiga, A.** (2008). Tableau de bord prospectif de l'hôpital principal de Dakar. Mémoire de DESS, ISMS, Dakar, Centre Africain d'étude Supérieur en Gestion, Sénégal, 72p.

- 21. Geleta, D., Megerssa, Y., Gudeta, AN., Akalu, GT., Debele, MT., Tulu, KD, (2015).** *Xpert MTB/RIF* assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis in Sputum specimens in remote health care facility. *BMC Microbiol*, 15 : 220.
- 22. Giang, DC., Duong, TN., Minh, DT., Nhan, HT., Wolbers, M., Nhu, NT, (2015).** Prospective evaluation of *genexpert MTB/Rif* for the diagnosis of hivnegative Pediatric TB cases. *BMC Infect Dis*, 15 : 70.
- 23. Gounder, A., Gounder, S., Reid, SA, (2014).** Evaluation of the Implementation of the *Xpert® MTB/RIF* assay in Fiji. *Public Health Action*, 4(3): 179–183
- 24. Horo, K., Toure, K., Brou-Gode , V.C., Ahui , B.J., Kouassi, B.A., Gnaze, A.Z., Konate-Kone, F., Ouattara, K., Motsebo, F.S., Meless, T., N'gom, A.S., Koffi, N.B., & Aka-Danguy, E. (2012).** Tuberculosis in the elderly; Epidemiology and outcomes of ambulatory followed-up in Abidjan. *Épidémiologie et de Santé Publique*, 60 (6) : 484–488.
- 25. Lawn, SD., Brooks, SV., Kranzer, K., Nicol, MP., Whitelaw, A., Vogt, M. (2011).** Screening for HIV-associated Tuberculosis and Rifampicin Resistance before Antiretroviral Therapy Using the *Xpert MTB/RIF* Assay: a prospective Study. *Plos Med*, 8(7): e1001067.
- 26. Lupande, D., Kaishusha, D., Mihigo, C., Itongwa, M., Yenga, G., Katchunga, P.** Role of *genexpert MTB/RIF* test in the screening for pulmonary Tuberculosis at the General Referral Provincial Hospital of Bukavu, in the East of the Democratic Republic of the Congo : balance after 10 months of use. *Pan.Afr. Med*, 27:260.
- 27. Mansaly, I. (2017).** « Tuberculose au Sénégal : 300 décès enregistrés annuellement sur les 13 166 cas de malades ». Pressafrik [en ligne], mars 2017, [consulté le 02 mars 2018]. Disponible sur https://www.pressafrik.com/%E2%80%8btuberculose-au-Senegal-300-deces-enregistres-annuellement-sur-les-13-166-cas-de-malades_a163056.html
- 28. Mathys V. (2010)** Contribution à la compréhension des mécanismes moléculaires de résistance de *M. Tuberculosis* aux agents antituberculeux. Thèse en vue de l'obtention du titre de docteur en Science Biomédicales et Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, 225p.
- 29. Mbatchou Ngahane, B.H., Diatta, A., Toure, N.O., Dia Kane, Y., Ba Diop, S., Ndiaye, E.H.M., Niang, A., Sah Belinga, A., Agodokpessi, G., Ngakoutou, R., Thiam, K., & Hane, A.A. (2008).** Profil clinique, Biologique et radiologique des nouveaux cas de tuberculose pulmonaire au centre Hospitalier Universitaire de Fann-Dakar. *Maladies Respiratoires*, 25(1) : 22-26.

- 30. Meier T, Eulenbruch HP, Wrighton-Smith P, Enders G, Regnath T.** (2005). Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot Assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice. *Eur.J. Clin.Microbiol Infect Dis*, 24(8) :529-36.
- 31. Millet, J.** (2011). Evaluation de marqueurs génétiques du complexe *Mycobacterium tuberculosis* combiné à l'utilisation d'outils bio-informatiques : apport En épidémiologie et phylogénie de la tuberculose. Thèse de doctorat, FSEN, Guyane, Université des Antilles et de la Guyane, Guyane, 171p
- 32. Organisation Mondiale De La Sante.** (2015). Le fardeau des maladies Causées par la tuberculose : rapport global 2014 sur la tuberculose. Genève, Suisse : Organisation mondiale de la Santé (OMS), 102p
- 33. Organisation Mondiale De La Sante.** (2017). Rapport sur la lutte contre la tuberculose dans le monde. Genève, Suisse : (OMS),127p
- 34. Ossoga, G.W.** (2015). Cartographie moléculaire des souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis* isolées au Tchad et analyse des résistances aux Antituberculeux de première et seconde ligne. Thèse de Doctorat, FST, UCAD, Dakar, 131 p.
- 35. Ould Abbes, D.** (2012). Manuel de la lutte antituberculeuse. 4e édition. Algérie : Edition & Publications 256 p.
- 36. Pai M, Zwerling A, Menzies D,** (2008). Systematic review: T-cell-based Assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection : an update. *Ann.Intern. Med/* 149(3) :177-84.
- 37. Rachow, A., Zumla, A., Heinrich, N., Rojas-Ponce, G., Mtafya, B., Reither, K., Ntinginya, EN., O'grady J, Huggett J, Dheda K, Boehme C, Perkins M, Saathoff E, Hoelscher, M,** (2011). Rapid and Accurate detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples by Cepheid Xpert MTB/RIF assay: a clinical validation study. *Plos.One*, 6(6): 20458..
- 38. Steingart, KR., Ng, V., Henry, M, et al,** (2006). Sputum processing Methodsto improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic Review. *Lancet.Infect. Dis* 6 :664—74
- 39. Theron, G., Pintol, Peter J., Mishra, HK., Mishra, HK., Van Zyl-Smit, R., Sharma, SK., Dheda, K,** (2012). The use of an automated Quantitative polymerase chain reaction (Xpert MTB/RIF) to predict the sputum smear Status of tuberculosis patients. *Clin.Infect. Dis*, 54(3): 384-388.
- 40. Timouyas, Y.** (2017). Étude moléculaire de la résistance à la rifampicine des Bacilles du complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Thèse de médecine. FMP, Marrakech, Université Cadi ayyad, Maroc, 199 p.

41. **World health organization.** Global tuberculosis control. Geneva, Switzerland: WHO; 2016 [Available at: WHO/HTM/TB/2016] 12 Mars 2020.
42. **Zeka, A., Tasbakan, S., Cavusoglu, C,** (2011). Evaluation of The genexpert MTB/RIF Assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of Rifampin Resistance in pulmonary and extra pulmonary specimens. *J. Clin.Microbiol*, 49(12) :4138–4141
43. **Zink A.R., Sola C., Reischl U., Brabner W., Rastogi N., Wolf H. and Nerlich A.G.** (2003) : Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* Complex dnas from Egyptian Mummies by Spoligotyping. *J. Clin. Microbiol.* 41 : 356-36

WEBOGRAPHIE

<http://www.oocities.org/tuberculosepulmonaire/transmission.html> consulté le 25 aout 2020

<https://www.flickr.com/photos/niaid/5149398656> consulté le 24 juillet 2020

<http://microbiologiemedicale.fr/physiopathologie-et-diagnostic-des-infections/plan/definitions-et-classification/> consulté le 13 mars 2020

<http://syara-fadlah.blogspot.sn/2012/03/mycobacterium-tuberculosis.html> consulté le 22 juillet 2020

<https://www.institutpasteur.nc/latuberculose/> consulté le 12 avril 2020

www.infectiologie.org.tn consulté le 1 décembre 2020

www.bichat.larib.com consulté le 26 novembre 2020

Titre: L'Apport du GeneXpert dans le diagnostic de la tuberculose pulmonaire à l'Hôpital Principal de Dakar: Bilan sur 6 mois

Prénom et Nom: JULIENNE NDELLA DIOUF née le 18-08-1989 à Palmarin Ngallou

Nature du mémoire : Mémoire de master en Biologie Animale (Spécialité : Parasitologie).

Membres du jury

Président :	M. Ngor FAYE	Maitre de conférences FST/UCAD
Membres :	M. Bécaye FALL	Professeur Titulaire HPD
	M. Arfang DIAMANKA	Maitre-Assistant FST/UCAD
	M. Malick FALL	Maitre de conférences FST/UCAD
Encadrants :	M. Bécaye FALL	Professeur Titulaire HPD
	M. Arfang DIAMANKA	Maitre-Assistant FST/UCAD
Superviseur :	M. Ngor FAYE	Maitre de conférences FST/UCAD

RESUME : La tuberculose (TB) constitue un problème majeur de santé publique mondial. Son contrôle est devenu de plus en plus compliqué suite à l'émergence de souches résistantes, voir des souches multiresistantes et ultraresistantes. De ce fait sa confirmation pose souvent problème en raison d'un plateau technique limité. Ainsi grâce au PNLT, l'Hopital Principal de Dakar (HPD) a bénéficié du GeneXpert qui est venu renforcer son plateau technique. L'objectif de notre étude était d'évaluer l'apport du GeneXpert dans la confirmation des suspicions de tuberculose et dans la prise en charge des malades. Il s'agit d'une étude prospective menée sur une période de 1an du 14 juin 2019 au 14 juin 2020, incluant 145 patients testés à la fois par le Ziehl-Neelsen et le GeneXpert. Dans notre étude la tuberculose pulmonaire a été confirmée par le GeneXpert et le Ziehl-Neelsen chez 34 patients soit une prévalence de 23%. L'âge moyen de nos patients est de 45,17 ans avec une prédominance de la tranche d'âge de [45-60] ans et un sex ratio de 2,3. La sensibilité de l'étude moléculaire à détecter le *M. tuberculosis* dans notre étude est plus élevée que celle de l'examen microscopique.

Mots clés : Prévalence, Ziehl-Neelsen, GeneXpert, *Mycobacterium tuberculosis*, Diagnostic HPD/Dakar

ABSTRACT: Tuberculosis (TB) is a major global public health problem. Its control became more and more complicated following the emergence of resistant strains, or even multiresistant and extensively resistant strains. Because of this, its confirmation is often problematic because of a limited technical platform. Thanks to the PNLT, the Principal Hospital of Dakar (HPD) benefited from the GeneXpert which came to reinforce its technical platform. The objective of our study was to evaluate the contribution of GeneXpert in the confirmation of suspicions of tuberculosis and in the management of patients. This is a prospective study conducted from June 14, 2019 to June 14, 2020, including 145 patients with a prevalence of 23%. The average age of our patients is 45,17 years with extremes ranging from 18 days to 91 years and a predominance of the age group [45-60] [years with a sex ratio of 2.3. The sensitivity of the molecular study to detect *Mycobacterium tuberculosis* in our study is higher than that of microscopic examination.

Keywords: Prevalence, Ziehl-Neelsen, GeneXpert, *Mycobacterium tuberculosis*, Diagnostic HPD/Dakar.