

UNIVERSITE MOHAMMED V

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2011

THESE N°: 13

**ETUDE COMPARATIVE DES CULTURES DES MYCOBACTÉRIES
EN MILIEU SOLIDE ET EN MILIEU LIQUIDE DANS LE
DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE A L'HÔPITAL MILITAIRE
D'INSTRUCTION MOHAMMED V DE RABAT**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mr. Otman RABICHI

Né le 6 janvier 1987 à Elkelâa des sraghna

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES: Comparative – Milieu liquide – Milieu solide – Mycobactéries – Tuberculose

JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

Mme. S. EL HAMZAOUI

Professeur agrégé de Microbiologie

Mr. B. EL MOSTARCHID

Professeur agrégé de neurochirurgie

Mr. A. BELMEKKI

Professeur Agrégé d'hématologie

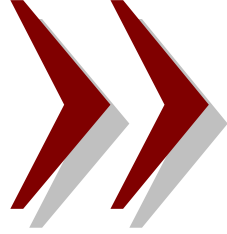
Mr. I. ABDERRAHMANI RHORFI

Professeur Agrégé de Pneumo-Phtisiologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES



سبحانك لا علم لنا إلا ما
علمتنا إنك أنت العليم
الحكيم

﴿

سورة البقرة: الآية: 31

اللهم انا نسألك علما نافعا و قلبا خاشعا و شفاء



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

- 1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ**
- 1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

- Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb

Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed

Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam
Pr. MESBAHI Redouane

Neurochirurgie
Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed
7. Pr. HAMANI Ahmed*
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
9. Pr. SBIHI Ahmed
Pr. TAOBANE Hamid*

Cardiologie
Traumatologie-Orthopédie
Cardiologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Anesthésie – Réanimation
Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali*
12. Pr. BENOMAR M'hamed
13. Pr. BENSOUA Mohamed
14. Pr. BENOSMAN Abdellatif
15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
17. Pr. BALAFREJ Amina
18. Pr. BELLAKHDAR Fouad
19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-physiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

21. Pr. BOUCETTA Mohamed*
22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
25. Pr. NAJI M'Barek *
26. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

27. Pr. BENJELLOUN Halima
28. Pr. BENSAID Younes
29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
30. Pr. IHRAI Hssain *
31. Pr. IRAQI Ghali
- Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-physiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

33. Pr. AJANA Ali
34. Pr. AMMAR Fanid
35. Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép.TAOBANE
36. Pr. EL FASSY FIIHRI Mohamed Taoufiq
37. Pr. EL HAITEM Naïma
38. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
39. Pr. EL YAACOUBI Moradh
40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
41. Pr. LACHKAR Hassan
42. Pr. OHAYON Victor*
- Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Gastro-Entérologie
Pneumo-physiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
45. Pr. DAFIRI Rachida
46. Pr. FAIK Mohamed
47. Pr. HERMAS Mohamed
- Pr. TOLOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

49. Pr. ADNAOUI Mohamed
50. Pr. AOUNI Mohamed
51. Pr. BENAMEUR Mohamed*
52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
53. Pr. CHAD Bouziane
54. Pr. CHKOFF Rachid
55. Pr. FARCHADO Fouzia ép.BENABDELLAH
56. Pr. HACHIM Mohammed*
57. Pr. HACHIMI Mohamed

Médecine Interne
Médecine Interne
Radiologie
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale
Pédiatrique
Médecine-Interne
Urologie

58. Pr. KHARBACH Aïcha
 59. Pr. MANSOURI Fatima
 60. Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda
 61. Pr. SEDRATI Omar*
 62. Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
 Anatomie-Pathologique
 Neurologie
 Dermatologie
 Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

63. Pr. AL HAMANY Zaitounia
 64. Pr. ATMANI Mohamed*
 65. Pr. AZZOUZI Abderrahim
 66. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM
 67. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
 68. Pr. BENABDELLAH Chahrazad
 69. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif
 70. Pr. BENSOUA Yahia
 71. Pr. BERRAHO Amina
 72. Pr. BEZZAD Rachid
 73. Pr. CHABRAOUI Layachi
 74. Pr. CHANA El Houssaine*
 75. Pr. CHERRAH Yahia
 76. Pr. CHOKAIRI Omar
 77. Pr. FAJRI Ahmed*
 78. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
 79. Pr. KHATTAB Mohamed
 80. Pr. NEJMI Maati
 81. Pr. OUAALINE Mohammed*
 82. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH
 83. Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Néphrologie
 Chirurgie Générale
 Hématologie
 Chirurgie Générale
 Pharmacie galénique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Biochimie et Chimie
 Ophtalmologie
 Pharmacologie
 Histologie Embryologie
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Anesthésie-Réanimation
 Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
 Pharmacologie
 Chimie thérapeutique

Décembre 1992

84. Pr. AHALLAT Mohamed
 85. Pr. BENOUDA Amina
 86. Pr. BENSOUA Adil
 87. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
 88. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
 89. Pr. CHRAIBI Chafiq
 90. Pr. DAOUDI Rajae
 91. Pr. DEHAYNI Mohamed*
 92. Pr. EL HADDOURY Mohamed
 93. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
 94. Pr. FELLAT Rokaya
 95. Pr. GHAFIR Driss*
 96. Pr. JIDDANE Mohamed
 97. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
 98. Pr. TAGHY Ahmed
 99. Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Gastro-Entérologie
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Anesthésie Réanimation
 Neurochirurgie
 Cardiologie
 Médecine Interne
 Anatomie
 Gynécologie Obstétrique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie

Mars 1994

100. Pr. AGNAOU Lahcen
 101. Pr. AL BAROUDI Saad
 102. Pr. BENCHERIFA Fatiha

Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Ophtalmologie

103. Pr. BENJAAFAR Nouredine
 104. Pr. BENJELLOUN Samir
 105. Pr. BEN RAIS Nozha
 106. Pr. CAOUI Malika
 107. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
 108. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
 109. Pr. EL AOUDAD Rajae
 110. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
 111. Pr. EL HASSANI My Rachid
 112. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
 113. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
 114. Pr. ERROUGANI Abdelkader
 115. Pr. ESSAKALI Malika
 116. Pr. ETTAYEBI Fouad
 117. Pr. HADRI Larbi*
 118. Pr. HASSAM Badredine
 119. Pr. IFRINE Lahssan
 120. Pr. JELTHI Ahmed
 121. Pr. MAHFOUD Mustapha
 122. Pr. MOUDENE Ahmed*
 123. Pr. OULBACHA Said
 124. Pr. RHRAB Brahim
 125. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR
 126. Pr. SLAOUI Anas

Radiothérapie
 Chirurgie Générale
 Biophysique
 Biophysique
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Gynécologie Obstétrique
 Immunologie
 Traumato-Orthopédie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Chirurgie Cardio- Vasculaire
 Chirurgie Générale
 Immunologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Médecine Interne
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique
 Traumatologie – Orthopédie
 Traumatologie- Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie –Obstétrique
 Dermatologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

127. Pr. ABBAR Mohamed*
 128. Pr. ABDELHAK M'barek
 129. Pr. BELAIDI Halima
 130. Pr. BRAHMI Rida Slimane
 131. Pr. BENTAHILA Abdelali
 132. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
 133. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
 134. Pr. CHAMI Ilham
 135. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
 136. Pr. EL ABBADI Najia
 137. Pr. HANINE Ahmed*
 138. Pr. JALIL Abdelouahed
 139. Pr. LAKHDAR Amina
 140. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Neurologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Gynécologie – Obstétrique
 Traumatologie – Orthopédie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Neurochirurgie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie

Mars 1995

141. Pr. ABOUQUAL Redouane
 142. Pr. AMRAOUI Mohamed
 143. Pr. BAIDADA Abdelaziz
 144. Pr. BARGACH Samir
 145. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*
 146. Pr. BENZAOUZ Mustapha
 147. Pr. CHAARI Jilali*
 148. Pr. DIMOU M'barek*
 149. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*

Réanimation Médicale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Gynécologie Obstétrique
 Urologie
 Gastro-Entérologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation

150. Pr. EL MESNAOUI Abbas
 151. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
 152. Pr. FERHATI Driss
 153. Pr. HASSOUNI Fadil
 154. Pr. HDA Abdelhamid*
 155. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
 156. Pr. IBRAHIMY Wafaa
 157. Pr. MANSOURI Aziz
 158. Pr. OUZZANI CHAHDI Bahia
 159. Pr. RZIN Abdelkader*
 160. Pr. SEFIANI Abdelaziz
 161. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Chirurgie Générale
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gynécologie Obstétrique
 Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
 Cardiologie
 Urologie
 Ophtalmologie
 Radiothérapie
 Ophtalmologie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Génétique
 Réanimation Médicale

Décembre 1996

162. Pr. AMIL Touriya*
 163. Pr. BELKACEM Rachid
 164. Pr. BELMAHI Amin
 165. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
 166. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
 167. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*
 168. Pr. GAOUZI Ahmed
 169. Pr. MAHFOUDI M'barek*
 170. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
 171. Pr. MOHAMMADI Mohamed
 172. Pr. MOULINE Soumaya
 173. Pr. OUADGHIRI Mohamed
 174. Pr. OUZEDDOUN Naima
 175. Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
 Chirurgie Pédiatrie
 Chirurgie réparatrice et plastique
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Parasitologie
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Médecine Interne
 Pneumo-phtisiologie
 Traumatologie-Orthopédie
 Néphrologie
 Cardiologie

Novembre 1997

176. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
 177. Pr. BEN AMAR Abdeselem
 178. Pr. BEN SLIMANE Lounis
 179. Pr. BIROUK Nazha
 180. Pr. BOULAICH Mohamed
 181. Pr. CHAOUIR Souad*
 182. Pr. DERRAZ Said
 183. Pr. ERREIMI Naima
 184. Pr. FELLAT Nadia
 185. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
 186. Pr. HAIMEUR Charki*
 187. Pr. KANOUNI NAWAL
 188. Pr. KOUTANI Abdellatif
 189. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
 190. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
 191. Pr. NAZI M'barek*
 192. Pr. OUAHABI Hamid*
 193. Pr. SAFI Lahcen*
 194. Pr. TAOUFIQ Jallal
 195. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
 Chirurgie Générale
 Urologie
 Neurologie
 O.R.L.
 Radiologie
 Neurochirurgie
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Radiologie
 Anesthésie Réanimation
 Physiologie
 Urologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Neurologie
 Anesthésie Réanimation
 Psychiatrie
 Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

196. Pr. AFIFI RAJAA
197. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*
198. Pr. ALOUANE Mohammed*
199. Pr. BENOMAR ALI
200. Pr. BOUGTAB Abdesslam
201. Pr. ER RIHANI Hassan
202. Pr. EZZAITOUNI Fatima
203. Pr. KABBAJ Najat
204. Pr. LAZRAK Khalid (M)

Gastro-Entérologie
Pneumo-ptisiologie
Oto-Rhino-Laryngologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

205. Pr. BENKIRANE Majid*
206. Pr. KHATOURI ALI*
207. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

208. Pr. ABID Ahmed*
209. Pr. AIT OUMAR Hassan
210. Pr. BENCHERIF My Zahid
211. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
212. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
213. Pr. CHAOUI Zineb
214. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
215. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
216. Pr. EL FTOUH Mustapha
217. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
218. Pr. EL OTMANY Azzedine
219. Pr. GHANNAM Rachid
220. Pr. HAMMANI Lahcen
221. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
222. Pr. ISMAILI Hassane*
223. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
224. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
225. Pr. TACHINANTE Rajae
226. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumoptisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

227. Pr. AIDI Saadia
228. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
229. Pr. AJANA Fatima Zohra
230. Pr. BENAMR Said
231. Pr. BENCHEKROUN Nabih
232. Pr. CHERTI Mohammed
233. Pr. ECH-CHEKRI EL KETTANI Selma
234. Pr. EL HASSANI Amine
235. Pr. EL IDGHIRI Hassan
236. Pr. EL KHADER Khalid
237. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
238. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
239. Pr. HSSAIDA Rachid*

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation

240. Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
241. Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
242. Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie
243. Pr. MAHASSIN Najat	Anatomie Pathologique
244. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae	Pédiatrie
245. Pr. NASSIH Mohamed*	Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
246. Pr. ROUIMI Abdelhadi	Neurologie
Décembre 2001	
247. Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
248. Pr. AOUAD Aicha	Cardiologie
249. Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation
250. Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophthalmologie
251. Pr. BENABDELJLIL Maria	Neurologie
252. Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
253. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
254. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
255. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
256. Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
257. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
258. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
259. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
260. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi	Anatomie
261. Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
262. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
263. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
264. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
265. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
266. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
267. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
268. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
269. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
270. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
271. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophthalmologie
272. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
273. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
274. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
275. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
276. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
277. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
278. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
279. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
280. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
281. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
282. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
283. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
284. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
285. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
286. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
287. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
288. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
289. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
290. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
291. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie

292. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Décembre 2002

293. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
294. Pr. AMEUR Ahmed *
295. Pr. AMRI Rachida
296. Pr. AOURARH Aziz*
297. Pr. BAMOU Youssef *
298. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
299. Pr. BENBOUAZZA Karima
300. Pr. BENZEKRI Laila
301. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
302. Pr. BERNOUSSI Zakiya
303. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
304. Pr. CHOHO Abdelkrim *
305. Pr. CHKIRATE Bouchra
306. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
307. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
308. Pr. EL BARNOUSSI Leila
309. Pr. EL HAOURI Mohamed *
310. Pr. EL MANSARI Omar*
311. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
312. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
313. Pr. HADDOUR Leila
314. Pr. HAJJI Zakia
315. Pr. IKEN Ali
316. Pr. ISMAEL Farid
317. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
318. Pr. KRIOULE Yamina
319. Pr. LAGHMARI Mina
320. Pr. MABROUK Hfid*
321. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
322. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
323. Pr. MOUSTAINE My Rachid
324. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
325. Pr. OUJILAL Abdelilah
326. Pr. RACHID Khalid *
327. Pr. RAISS Mohamed
328. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
329. Pr. RHOU Hakima
330. Pr. SIAH Samir *
331. Pr. THIMOU Amal
332. Pr. ZENTAR Aziz*
333. Pr. ZRARA Ibtisam*

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

334. Pr. ABDELLAH El Hassan
335. Pr. AMRANI Mariam
336. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
337. Pr. BENKIRANE Ahmed*

Urologie

- Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Rhumatologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Gynécologie Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique

- Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie

338. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 339. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 340. Pr. BOULAADAS Malik
 341. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 342. Pr. CHAGAR Belkacem*
 343. Pr. CHERRADI Nadia
 344. Pr. EL FENNI Jamal*
 345. Pr. EL HANCHI ZAKI
 346. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 347. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 348. Pr. HACHI Hafid
 349. Pr. JABOUIRIK Fatima
 350. Pr. KARMANE Abdelouahed
 351. Pr. KHABOUZE Samira
 352. Pr. KHARMAZ Mohamed
 353. Pr. LEZREK Mohammed*
 354. Pr. MOUGHIL Said
 355. Pr. NAOUMI Asmae*
 356. Pr. SAADI Nozha
 357. Pr. SASSENOU ISMAIL*
 358. Pr. TARIB Abdelilah*
 359. Pr. TIJAMI Fouad
 360. Pr. ZARZUR Jamila

Chimie Analytique
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie
 Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Janvier 2005

361. Pr. ABBASSI Abdellah
 362. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 363. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
 364. Pr. ALLALI Fadoua
 365. Pr. AMAR Yamama
 366. Pr. AMAZOUZI Abdellah
 367. Pr. AZIZ Noureddine*
 368. Pr. BAHIRI Rachid
 369. Pr. BARKAT Amina
 370. Pr. BENHALIMA Hanane
 371. Pr. BENHARBIT Mohamed
 372. Pr. BENYASS Aatif
 373. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 374. Pr. BOUKLATA Salwa
 375. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
 376. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 377. Pr. EL HAMZAOUI Sakina
 378. Pr. HAJJI Leila
 379. Pr. HESSISSEN Leila
 380. Pr. JIDAL Mohamed*
 381. Pr. KARIM Abdelouahed
 382. Pr. KENDOSSI Mohamed*
 383. Pr. LAAROUSSI Mohamed
 384. Pr. LYAGOUBI Mohammed
 385. Pr. NIAMANE Radouane*

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Rhumatologie
 Néphrologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Pédiatrie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie

386. Pr. RAGALA Abdelhak
 387. Pr. SBIHI Souad
 388. Pr. TNACHERI OUZZANI Btissam
 389. Pr. ZERAIDI Najia

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 424. Pr. AFIFI Yasser
 425. Pr. AKJOUJ Said*
 426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
 427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 428. Pr. BENCHEIKH Razika
 429. Pr. BIYI Abdelhamid*
 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 434. Pr. DOGHMI Nawal
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa
 436. Pr. FELLAT Ibtiham
 437. Pr. FAROUDY Mamoun
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham
 440. Pr. HANAFAI Sidi Mohamed*
 441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 442. Pr. JROUNDI Laila
 443. Pr. KARMOUNI Tariq
 444. Pr. KILI Amina
 445. Pr. KISRA Hassan
 446. Pr. KISRA Mounir
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 450. Pr. MANSOURI Hamid*
 451. Pr. NAZIH Naoual
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak
 453. Pr. SAFI Soumaya*
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 455. Pr. SEFIANI Sana
 456. Pr. SOUALHI Mouna
 457. Pr. TELLAL Saida*
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
 461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
 462. Pr. BAITE Abdelouahed *
 463. Pr. TOUATI Zakia
 464. Pr. OUZZIF Ez zohra *

Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique

Rhumatologie
 Dermatologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Anatomie pathologique
 Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation
 Anesthésie réanimation
 Anesthésie réanimation
 Cardiologie
 Biochimie

465. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad*	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Noureddine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie
480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhoussain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUMI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie
<u>Mars 2009</u>	
Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire

Pr. AMAHZOUNE Brahim*	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali *	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
Pr. L'kassimi Hachemi*	Microbiologie
Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique
Octobre 2010	
Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
Pr. CHERRADI Ghizlan	Cardiologie
Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
Pr. KANOUNI Lamya	Radiothérapie
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérologique
Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
Pr. RAISSOUNI Zakaria*	Traumatologie orthopédie
Pr. BOUAITY Brahim*	ORL

Pr. LEZREK Mounir
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. LAMALMI Najat
Pr. ZOUAIDIA Fouad
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. CHADLI Mariama*

Ophthalmologie
Hématologie
Anatomie pathologique
Anatomie pathologique
Physiologie
Biochimie chimie
Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima
3. Pr. ALAOUI KATIM
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
5. Pr. ANSAR M'hammed
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed
9. Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia
10. Pr. DAKKA Taoufiq
11. Pr. DRAOUI Mustapha
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen
13. Pr. ETTAIB Abdelkader
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine
17. Pr. KABBAJ Ouafae
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine
19. Pr. REDHA Ahlam
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
21. Pr. TOUATI Driss
22. Pr. ZAHIDI Ahmed
23. Pr. ZELLOU Amina

Physiologie
Biochimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Applications Pharmaceutiques
Génétique Humaine
Microbiologie
Biochimie
Physiologie
Chimie Analytique
Pharmacognosie
Zootechnie
Pharmacologie
Chimie Organique

Biochimie
Biologie
Biochimie
Chimie Organique
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

** Enseignants Militaires*

DEDICACES

À ma très chère mère

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ces enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À mon très cher père

Tu es pour moi l'homme idéal, l'exemple que j'admire, pour toutes les peines et les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Ce travail ne saurait exprimer mon amour filial, mon respect et ma profonde reconnaissance.

Aucune expression, ni aucune dédicace ne pourrait exprimer ce que tu représentes dans ma vie, mais j'espère que tu trouveras ici dans ce modeste travail le fruit de tant de sacrifices.

Que Dieu te protège et t'accorde santé, longue vie et bonheur.

À mes chers frères

Abderrahim et son épouse Khadija

Adil et son épouse Naima

Abdelilah, Abdelbast et le petit gros Imad

Les mots ne sauraient exprimer l'entendu de l'affection que j'ai pour vous et ma gratitude.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de prospérité.

Àu petits Mounir et Badet

Que dieu vous protège

À mon adorable Soumia لست ممتا لى لى

Aucun mot ne saurait exprimer mes sentiments les plus profonds envers toi.

Je t'assure que sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

Que ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

À ma tante Fatifa et son époux Atzeddine

Aucune dédicace ne pourrait traduire ma gratitude et ma profonde reconnaissance.

Je vous dédie ce travail comme témoignage de mon respect et mon amour

À mes grand-mères

Ta présence dans la famille est le secret de notre bonheur...

Que dieu te procure santé et joie pour le restant de ta vie...

À la mémoire de mes grand-pères

Nous prions tous pour vous et que votre âme repose en paix...

À tous les membres de la grande famille R&B&C&H et la grande famille C&A&Y&J petits et grands

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

À mes ami(e)s

*Brahim BVAKHZEN, Noureddine ABOUNOÛT,
Ibrahim HRROU, Mourad ADJ, Abdelhadi
RACHID, Abdelhamid MAYDOUNF, Noureddine
LAKZAB, Farid LAABOUSSA, Kamal
RABACHEL, Hassan JAHER,.....*

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

***À toute personne qui a contribué de près ou de loin à
la réalisation de ce travail***

À tous ceux à qui je pense et que j'ai omis de citer

REMERCIEMENTS

A notre maître et président de thèse

Monsieur le professeur Mímoun ZOUHDI

Professeur de microbiologie

*Vous avez bien voulu nous faire honneur en acceptant de
présider Le Jury de cette thèse.*

*Vos qualités humaines et professionnelles sont pour nous
un exemple à suivre.*

*Soyez assuré de notre vive reconnaissance et de notre
profond respect.*

À notre maître et rapporteur de thèse

Mme le professeur Sakina EL HAMZAOU

Professeur de microbiologie

*Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche
d'intérêt et nous guider à chaque étape de sa réalisation.*

*Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil,
malgré vos obligations professionnelles.*

*Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre
gentillesse méritent toute admiration.*

*Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre
profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.*

À notre maître et juge de thèse

Monsieur le professeur Brahim EL MOSTARCHID

Professeur de neurochirurgie

*Vous avez accepté avec grande amabilité de juger cette
thèse.*

*Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons à vous
exprimer nos sincères remerciements et notre profond
respect.*

A notre maître et juge de thèse

Monsieur le professeur Abdelkader BELMEKKI

Professeur d'hématologie

*Vous avez accepté en toute simplicité de juger ce travail
et c'est pour nous un grand honneur de vous voir siéger
parmi notre jury de thèse.*

*Nous tenons à vous remercier et à vous exprimer notre
respect.*

À notre maître et juge de thèse

Monsieur le professeur Ismaïl ABDERRAHMANI

RHORFI

Professeur de pneumologie

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous
faites en acceptant de juger ce travail.*

*Veillez accepter, maître, l'expression de notre profond
respect et de notre reconnaissance.*

*A tous le personnel du personnel du laboratoire de bactériologie
à l'hôpital militaire Mohammed V d'instruction*

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMTD : Mycobacterium tuberculosis Direct Test

ARN : Acide ribonucléique

BAAR : Bacille acido-alcool-résistant

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

BK : Bacille de Koch

CL : Coletsos

Cm : Centimètre

CO2 : Dioxyde de carbone

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines

EDTA : Ethylène-diamine-tétra-acétique

FN : Faux négatif

GBEA : Guide des bonnes exécutions des analyses aux laboratoires

H2O2 : Eau oxygénée

HMIMV : Hopital Militaire d'Instruction Mohammed V

HSR : Hypersensibilité retardée

IDR : Intradermoréaction à la tuberculine

INH : Isoniazide

Kg : Kilogramme

LCR : Liquide céphalo-rachidien

LJ : Lowenstein-Jensen

MGIT : Mycobacterial Growth Indicator Tube

MNT : mycobactérie non tuberculeuse

NFS : Numération formule sanguine

OADC : Acide oléique, albumine, dextrose et catalase

OMS : Organisation mondiale de la santé

PANTA : Polymixine B, Amphotéricine, Acide nalidixique, Triméthoprim et Carboxy-pénicilline

PAS : Acide para-amino-salicylique

PCR : Polymerase chain reaction

pH : Potentiel hydrogène

PI : Primo-Infection

PRA : PCR Restriction Enzyme Analysis

RAI : Risque annuel d'infection

RH : Rifampicine et Isoniazide

RHZ : Rifampicine, Isoniazide et Pyrazinamide

RHZE : Rifampicine, Isoniazide, Pyrazinamide et l'Ethambutol

SDA : Strand Displacement Amplification

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

SPSS : Statistical Package For Social Science

SRHZE : Streptomycine, Rifampicine, Isoniazide, Pyrazinamide et l'Ethambutol

TB : Tuberculose pulmonaire

Tb1 : Thioacétazone au thiosemicarbazone

TCH : Hydrazide de l'acide thiophène 2-carboxylique

TEP : Tuberculose extrapulmonaire

TMA : Transcription Mediated Amplification

TNF : tumor necrosis factor

TPM+ : Tuberculose pulmonaire à microscopie positive

TPMo : Tuberculose pulmonaire à microscopie négative

TPMoC+ : Tuberculose pulmonaire à microscopie négative et à culture positive

VIH : Virus d'immunodéficience humaine

VP : vitesse de pousse

VPN : valeur prédictive négative

VPP : valeur prédictive positive

ZN : Ziehl Neelsen

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : structure de la paroi des mycobactéries.....	8
Figure 2 : Transmission interhumaine des mycobactéries	16
Figure 3 : PRELEVEMENTS, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010	55
Figure 4 : ECRASEMENT D'UNE BIOPSIE, service de microbiologie, HMIMV, RABAT 2010	57
Figure 5 : IDENTIFICATION DES PRELEVEMENTS, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010.....	57
Figure 6 : REALISATION DES FROTTIS, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010.....	58
Figure 7 : COLORATION A L'AURAMINE, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010.....	59
Figure 8 : AURAMINE A PARTIR D'UNE COLONIE DE <i>M. tuberculosis</i> , service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010	60
Figure 9 : COLORATION AU ZIEHL-NEELSEN, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010	60
Figure 10 : ZIEHL NEELSEN A PARTIR DU PUS D'UNE ULCERATION CUTANEE, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010	61
Figure 11 : DECONTAMINATION, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010	62
Figure 12 : NEUTRALISATION, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010	63
Figures 13 : CENTRIFUGATION, service de MICROBIOLOGIE, HMIMV RABAT 2010.....	64
Figures 14 : INOCULATION DES MILIEUX, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010	64
Figures 15 : INCUBATION DES CULTURE SUR MILIEUX SOLIDE A L'ETUVE, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010	65

Figure 16 : INCUBATION DES MILIEUX DANS LE MGIT Bactec 960, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010.....	66
Figures 17 : DEBLEAGE, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010	66
Figure 18 : CULTURE POSITIVE SUR UN MILIEU SOLIDE, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010	67
Figure 19 : ZIEHL NEELSEN A PARTIR D'UNE COLONIE <i>M. tuberculosis</i> , provenant d'un tubage gastrique, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010	67
Figure 20 : Répartition des prélèvements selon le site de prélèvement, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	69
figure 21 : Résultats de l'examen direct, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	70
Figure 22 : Résultats de l'examen direct pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	70
Figure 23 : Résultats de l'examen direct pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.....	71
Figure 24 : Résultats de la culture sur milieu liquide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	71
Figure 25 : Résultats de la culture rapide pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	72
Figure 26 : Résultats de la culture rapide pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.....	72
Figure 27 : Résultats de la culture sur milieu solide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	73
Figure 28 : Résultats de la culture classique pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	73
Figure 29 : Résultats de la culture classique pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.....	74

Figure 30 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	75
Figure 31 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	75
Figure 32 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	76
Figure 33 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide pour les prélèvements positifs à l'examen direct, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	76
Figure 34 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide pour les prélèvements négatifs à l'examen direct, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	77
Figure 35 : Indices informationnels de l'examen direct et de la culture rapide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	78
Figure 36 : Indices informationnels de l'examen direct et de la culture rapide pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	78
Figure 37 : Indices informationnels de l'examen direct et de la culture rapide pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.	79
Figure 38 : Courbe de ROC comparant le diagnostic de la tuberculose pulmonaire par la technique rapide et la technique classique.....	83
Figure 39 : Courbe de ROC comparant le diagnostic de la tuberculose extrapulmonaire par la technique rapide et la technique classique.....	84
Figure 40 : recoloration avec le rouge de thiazine, service de microbiologie, HMIMV, Rabat.....	95
Figure 41 : Chauffage des lames (coloration de Ziehl), service de microbiologie, HMIMV, Rabat.....	97

Figure 42 : recoloration avec bleu de méthylène, service de microbiologie, HMIMV, Rabat.....	98
Figure 43 : Réception des prélèvements, service de microbiologie, HMIMV, Rabat	100
Figure 44 : Préparation des frottis, service de microbiologie, HMIMV, rabat	101
Figure 45 : Appareil agitateur, service de microbiologie, HMIMV, rabat	102
Figure 46 : Etape de centrifugation, service de microbiologie, HMIMV, Rabat	102
Figures 47 : Ensemencement dans les milieux solides, service de microbiologie, HMIMV, Rabat.....	103
Figure 48 : Dépôt des milieux de culture dans l'étuve, service de microbiologie, HMIMV, Rabat.....	103

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractères cultureux de certaines mycobactéries du complexe tuberculosis [40, 41]	11
Tableau 2 : Caractères biochimiques de certaines mycobactéries du complexe tuberculosis [29, 30, 42] .-----	12
Tableau 3 : Sensibilité du complexe tuberculosis à certaines substances altérant son métabolisme (R : résistant; S : sensible) [33]. -----	12
Tableau 4 : Activité de désinfectants sur les mycobactéries (Temps de contact : 20 mn à 20°C) [41, 43] .-----	13
Tableau 5 : *UICTMR : union internationale contre la tuberculose et les maladies respiratoires-----	62
Tableau 6 : comparaison des vitesses moyennes de pousse des cultures des mycobactéries sur milieu liquide et sur milieu solide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010: -----	79
Tableau 7 : comparaison des résultats des cultures des mycobactéries sur milieu liquide et sur milieu solide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010: -----	81

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
HISTORIQUE	4
Partie théorique	7
I. Caractères bactériologiques :	8
A. Taxonomie :	8
B. Caractéristiques :	8
1. Générales :	8
2. Morphologiques :	10
3. Culturelles :	11
4. Biochimiques :	11
5. Sensibilité à des substances agissant sur le métabolisme des mycobactéries du groupe tuberculosis:	12
6. Sensibilité aux agents physiques et chimiques :	13
II. Epidémiologie :	15
A. Réservoir :	15
B. Transmission :	15
C. Réceptivité :	16
D. Facteurs favorisants :	18
1. Transmission :	18
2. Développement d'une tuberculose : Dépend de :	18
3. Tuberculose dans l'armée :	19
E. Aspects épidémiologiques :	19
III. PHYSIOPATHOLOGIE :	20
IV. FORMES CLINIQUES:	21

A. La Tuberculose pulmonaire commune :	21
B. La Tuberculose extra pulmonaire :	22
1. La pleurésie tuberculeuse :	22
2. La méningite tuberculeuse :	22
3. La tuberculose ganglionnaire :	23
4. La Tuberculose ostéo-articulaire :	23
5. Tuberculose urogénitale :	24
6. La Miliaire tuberculeuse :	25
7. Autres localisations possibles ^[70, 71, 72, 73, 74, 75] :	25
V. Diagnostic de la tuberculose : La démarche conduisant au traitement :	26
A. Contexte épidémiologique évocateur :	26
B. Diagnostic clinique :	27
1. Signes généraux :	27
2. Signes cliniques respiratoires :	27
3. Signes cliniques extraréspiratoires :	28
C. Rechercher une forme contagieuse :	28
D. L'Imagerie :	29
1. Radiographie thoracique :	29
2. Tomodensitométrie thoracique (scanner) :	30
3. L'imagerie extra-thoracique :	30
E. Biologie (exceptée la bactériologie):	30
F. Histologie :	31
G. Confirmation du diagnostic : La bactériologie :	31

1. Choix des prélèvements :	32
2. Démarche générale :	34
VI. TRAITEMENT :	45
A. Objectif épidémiologique :	45
B. Objectif curatif :	45
C. Moyens et durée :	45
1. Catégorie I: Nouveaux cas de TPM+ et formes graves:	45
2. Catégorie II: Rechute et échec au traitement et reprise de traitement:	46
3. Catégorie III: TPMo, TPMoC+, PI et TEP:	47
4. Catégorie IV : tuberculose chronique et multirésistante:	48
D. AUTRES REGIMES :	48
1. Toxicité majeure à l'un des antibacillaires :	48
2. Selon le terrain :	48
3. Les pathologies associées :	49
Partie pratique	51
I. Matériel et méthodes :	52
A. Lieu et durée d'étude :	52
B. Critères d'inclusion :	52
C. Critères d'exclusion :	52
D. Patients :	53
E. Analyses bactériologiques :	53
1. Mesures de sécurité appliquées dans ce laboratoire :	53
2. Préparation des prélèvements :	55

3. Traitement des prélèvements :	57
F. Analyse des données :	68
G. Les indices informationnels étudiés :	68
II. Résultats :	69
A. Examen direct :	69
B. Culture sur milieu liquide :	71
C. Culture sur milieu solide :	73
D. Vitesse de pousse :	74
E. Indices informationnels : (annexe)	77
F. Comparaison des deux types de culture :	79
1. Vitesse de croissance des mycobactéries :	79
2. Résultats des cultures :	81
III. Discussion :	85
IV. Conclusion :	90
V. Résumé :	91
VI. Abstract :	92
VII. ملخص :	93
Annexe	94
Bibliographie	113

INTRODUCTION

Maladie contagieuse, endémo-épidémique, à transmission essentiellement interhumaine, l'atteinte pulmonaire est la plus fréquente des localisations représentant la source habituelle de transmission, et réputée comme étant la maladie des pauvres par excellence, la tuberculose (TB) a fait et continue à faire des dégâts considérables dans le monde entier. Elle est responsable chaque année du plus grand nombre de décès dans le monde (plus de 3 millions), plus que le paludisme, le choléra, la diphtérie...et tant d'autres maladies infectieuses réunies. Considérée comme presque éradiquée dans les pays développés, l'épidémie du Syndrome d'Immunodéficience Acquis (SIDA) apparue depuis le début des années 80 l'a remise au devant de l'actualité et des préoccupations des autorités sanitaires mondiales comme facteur aggravant [1; 2; 3].

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que le tiers de l'humanité (entre 1,7 à 2 milliards de personnes), est infecté par le bacille de Koch, *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tuberculosis*), et que, 22 pays comptent à eux seuls 80% des cas de tuberculose frappant la tranche d'âge 15-50 ans [4; 5], c'est-à-dire la période la plus productive de la vie des individus, ce qui explique l'incidence de la maladie de point de vue économique [6;7;8].

Au Maroc, la tuberculose continue à poser un grand problème de santé publique; de part sa fréquence et sa gravité; malgré l'existence de programmes nationaux de lutte antituberculeuse depuis plusieurs années. En dépit de ces programmes, on enregistre en 2008, 25473 nouveaux cas [9].

Un diagnostic rapide, suivi d'une mise au traitement sans délai pourrait nous permettre de retrouver l'optimisme.

Le diagnostic de la tuberculose est toujours heurté aux processus long et fastidieux des techniques de mises en évidence des mycobactéries. L'examen microscopique direct bien que facile à réaliser, manque de sensibilité, la culture qui reste de référence et

de bonne sensibilité, demande parfois jusqu'à dix semaines d'où la nécessité de rechercher de nouvelles méthodes de diagnostic rapide, permettant une mise en route plus précoce et plus adapté à l'antibiothérapie [10; 11].

Depuis Robert Koch (1882), le diagnostic de la tuberculose est affirmé par la mise en évidence du *M.tuberculosis*, *M.bovis* et *M.africanum*, après plusieurs semaines d'attente. Depuis une dizaine d'années, on assiste à l'émergence de techniques qui raccourcissent de manière tangible le temps nécessaire au diagnostic bactériologique. Parmi les premières techniques de culture rapide, a été initiée en 1997, l'utilisation de la respirométrie fluorimétrique, qui, depuis 1998, a profondément bouleversé l'organisation des laboratoires de mycobactériologie [12].

Les objectifs du présent travail:

1- Comparer les deux techniques de culture des mycobactéries ; la technique classique de référence : sur milieux solides (Löwenstein-Jensen et Coletsos) et la nouvelle technique rapide : sur milieu liquide ; à travers une étude réalisée sur 6000 patients admis à l'hôpital Mohammed V de Rabat.

2- Spécifiquement :

Evaluer la sensibilité de la technique rapide de détection des mycobactéries.

Déterminer les performances du Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT).

Raccourcir le temps de culture des prélèvements positifs à microscopie négative afin d'éviter l'allongement du temps d'hospitalisation et entamer le traitement le plutôt possible.

HISTORIQUE

La TB humaine est une maladie qui a été reconnue depuis la haute antiquité ^[13]. Elle a été décrite par Hippocrate sous le nom de «phtisie» et ses lésions ont été diagnostiquées sur des momies égyptiennes ^[14; 15].

L'association entre la TB bovine et humaine a été suspectée plusieurs siècles avant la découverte du bacille tuberculeux ^[16]. En 1831, Gurlt a mis en évidence des similitudes entre la TB humaine et bovine ^[17]. En 1846, Klencke a incriminé le lait des vaches comme source des adénites cervicales des enfants ^[18]. Dès 1865, Villemin a soupçonné le caractère microbien de la TB ^[19]. En 1873, Hansen découvre que la lèpre est causée par un fin bacille ^[20], qui a beaucoup de ressemblances avec celui qui sera découvert 9 ans plus tard par R. Koch. C'est en 1882 que ce dernier colore et fait pousser sur un sérum coagulé, le bacille responsable de la TB ^[21]. En montrant peu après que le bacille coloré par la fuchsine aniliné n'est pas décoloré par l'acide nitrique au tiers, Ehrlich met en évidence l'acido-résistance des mycobactéries. Ziehl remplace bientôt la fuchsine aniliné par la fuchsine phéniquée et Neelson publie la méthode de coloration dite de Ziehl-Neelson, qui est couramment employée depuis lors ^[19]. Dès la fin des années 1880, Nocard et Roux montrent que l'addition de la glycérine stimule la croissance du bacille. Les travaux de Rivolta en 1889, puis de Maffucci en 1890 conduisent à différencier le bacille aviaire du bacille humain. En 1890 aussi, la tuberculine est mise au point par Koch ^[22] et Guttman propose de l'utiliser pour le diagnostic allergique de la tuberculose dès 1891. En 1892, Bang préconise d'éliminer les animaux réagissant positivement à la tuberculine. A partir de 1902 et suite aux travaux de Smith (1896-1898), le bacille bovin est à son tour distingué du bacille humain. Les trois grandes variétés de bacilles pathogènes (humain, bovin et aviaire) sont dès lors connues, mais à côté de ces variétés, de nombreuses mycobactéries commensales ou saprophytes sont également

décrites [18; 19; 23]. Dès 1920, la pasteurisation du lait permet de réduire la mortalité infantile due à *Mycobacterium bovis*, et l'année suivante, Calmette et Guérin proposent leur vaccin vivant atténué, le BCG, obtenu par passages répétés sur un milieu bilié à base de pomme de terre (230 repiquage durant 13 ans) [19; 24].

En 1944, Waksman découvre la streptomycine, premier antibiotique actif sur le bacille tuberculeux. Puis viennent, en 1949, l'acide para-amino-salicylique (PAS), en 1952, l'isoniazide, et après de nombreux autres antibacillaires, la rifampicine en 1967.

En 1953, d'autres mycobactéries acido-alcool-résistantes, les bacilles «paratuberculeux» ont été mises en évidence dans les milieux les plus divers (eau, terre, fumier, beurre...). Pollak et Buhler confirment le pouvoir pathogène occasionnel de certaines espèces de mycobactéries et isolent *Mycobacterium kansasii* sur des cadavres humains, ce qui relance les recherches sur les mycobactéries atypiques responsables de diverses mycobactérioses humaines et animales [25].

En 1968, Castets, Boisvert, Grumbach, Brunel et Rist décrivent une variété africaine du bacille tuberculeux, qui a été rapidement relevée au titre d'espèce et appelée «*Mycobacterium africanum*» [26].

On compte aujourd'hui plus de 100 espèces de mycobactéries, la plupart non pathogènes [27; 28].

PARTIE THEORIQUE

I. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES :

A. Taxonomie :

Les mycobactéries appartiennent à l'ordre des actinomycétales, à la famille des mycobacteriaceae et au genre unique *Mycobacterium* (*M*), ce dernier renferme plus de cinquante espèces dont certaines à croissance lente : le complexe tuberculosis qui comprend essentiellement *M.tuberculosis*, *M.africanum*, *M.bovis*, *M.microti* et *M.canetti*. A l'opposé on trouve les mycobactéries à croissance rapide ou mycobactéries non tuberculeuses dites atypiques et le *M.leprae* [29, 30].

B. Caractéristiques :

1. Générales :

a. Acido-alcoolo résistance :

C'est la capacité pour la mycobactérie de résister à l'action conjointe de l'alcool et de l'acide, cette propriété est liée à la richesse de la paroi en acide mycolique qui confère une texture cireuse à la bactérie (figure 1) d'où le principe de la coloration de Ziehl Neelsen (ZN) qui consiste en le chauffage de la fuschine pour faciliter sa pénétration (**annexe**).

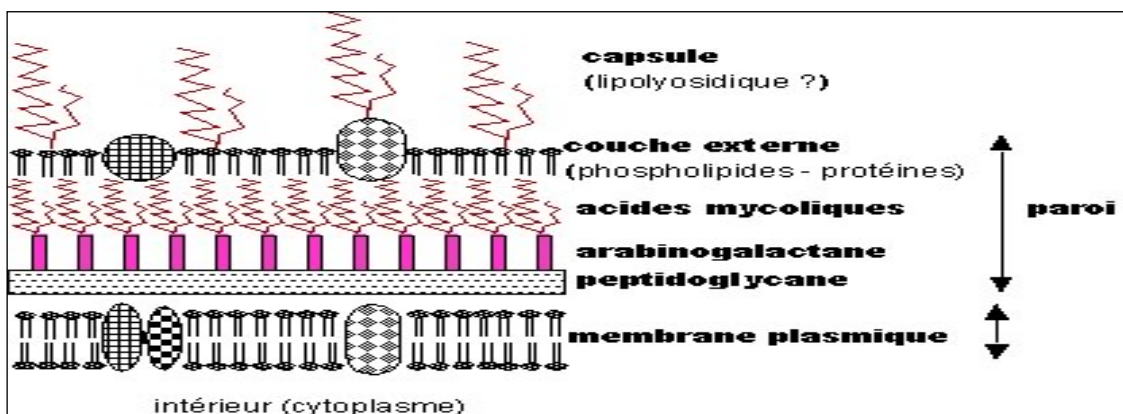


Figure 1 : structure de la paroi des mycobactéries

L'addition à froid de l'acide et de l'alcool empêche leur passage à travers le réseau mycolique, permettant ainsi à la mycobactérie de garder sa couleur rouge, qui contraste avec le fond bleu [31, 32].

b. L'aérobiose stricte :

Elle est nécessaire pour la multiplication des mycobactéries. Les organes extrapulmonaires de part leur vascularisation sont très oxygénés, ce qui facilite leur contamination [33].

c. La lenteur de multiplication :

La division d'une mycobactérie dure vingt heures à cause du faible nombre de copies des gènes des acides ribonucléiques (ARN) ribosomiaux, ceci explique la lenteur des cultures particulièrement sur milieux solides, en moyenne deux à trois mois. Cette lenteur de croissance règle le rythme d'administration des antibacillaires (une seule prise par jour) d'où une longue période de traitement [34].

d. La résistance primaire aux antibacillaires :

La présence d'une proportion de mutants résistants dans chaque population de mycobactéries (résistance primaire) diffère d'un antibacillaire à l'autre. Par exemple vis-à-vis de l'Isoniazide (INH), une population de mycobactéries renferme 1/1000000 mutants résistants et vis-à-vis de la rifampicine, elle en renferme 1/10000000. La présence de ces mutants résistants primaires fait que l'étude de l'antibacillogramme se fait par la « méthode des proportions » [35, 36].

e. La résistance à la dessiccation :

Les mycobactéries survivent en suspension dans l'air, ce qui facilite leur transmission aérienne [37].

f. Absence de sécrétions toxiques et enzymatiques :

Ne libèrent ni toxines, ni enzymes, les mycobactéries sont pathogènes par leur pouvoir invasif ^[12].

2. Morphologiques :

Les mycobactéries se présentent comme des bacilles fins (2 à 5 microns de long et 0,3 microns de large), rectilignes ou légèrement incurvés aux extrémités arrondies, non capsulés et non sporulés ^[29, 30].

Après coloration au Ziehl-Neelsen (**annexe**) les mycobactéries apparaissent roses sur un fond bleu au microscope à l'immersion ^[38]. Après coloration à l'Auramine (**annexe**) les mycobactéries ont une teinte vert-jaune au microscope à fluorescence ^[39].

Dans les produits pathologiques, les mycobactéries ont une forme isolée ou en petits amas et dans les milieux de culture elles prennent une forme coccoïde ou filamenteuse ^[19].

3. Culturelles :

Tableau 1 : Caractères culturels de certaines mycobactéries du complexe tuberculosis [40, 41].

	<i>M.tuberculosis</i>	<i>M.africanum</i>	<i>M.bovis</i>	BCG
Type respiratoire	Aérobies strictes	Micro-aérophiles	Micro-aérophiles	Aérobies strictes
Délai moyen de croissance (jours)	14-28	60-90	30-40	14-28
Aspect macroscopique des colonies	Eugoniques Rugueuses « chou-fleur »	Dysgoniques Rugueuses Plates à centre sur élevé	Dysgoniques Lisses « gouttelettes»	Eugoniques Rugueuses Étalées
Couleur	Beige	Beige	Cire de bougie	Beige
Pigmentation	Aucune	Aucune	Aucune	Aucune
Température	35 à 37°C	35 à 37°C	35 à 37°C	35 à 37°C
pH	6,8 à 7.0	6,8 à 7.0	6,8 à 7.0	6,8 à 7.0
Humidité et CO₂ (5à10%)	Nécessaire	Nécessaire	Nécessaire	Nécessaire
Besoins nutritifs (azote, carbone...)	Nécessaire	Nécessaire	Nécessaire	Nécessaire

4. Biochimiques :

Les mycobactéries produisent l'acide nicotinique ou niacine (niacine test ou test de KONNO) : la niacine est excrétée par la bactérie et elle est recherchée dans les cultures abondantes et âgées (plus de 4 semaines). Elle diffuse dans l'eau distillée et est révélée par une coloration jaune de l'extrait [29, 30, 42].

Elles réduisent les nitrates en nitrites (technique de VIRTANEN) [30, 42].

On cherche aussi une catalase sur le produit de raclage d'une culture jeune à 22° et à 68° [30,42].

Tableau 2 : Caractères biochimiques de certaines mycobactéries du complexe tuberculosis [29, 30, 42].

	<i>M.tuberculosis</i>	<i>M.africanum</i>	<i>M.bovis</i>	BCG
NIACINE	+	Variable	-	-
NITRATE REDUCTASE	+	Variable	-	-
CATALASE THERMOLABILE	+ à 22°C - à 68°C	+	+	+

5. Sensibilité à des substances agissant sur le métabolisme des mycobactéries du groupe tuberculosis:

Tableau 3 : Sensibilité du complexe tuberculosis à certaines substances altérant son métabolisme (R : résistant; S : sensible) [33].

MYCOBACTERIES	Hydrazide de l'acide thiophène 2-carboxylique (TCH) à 2ug /ml	Thioacétazone au thiosemicarbazone (Tb1) à 10ug/ml	Pyrazinamide	Acide paraamino-salicylique
M .tuberculosis	R	S	S	S
M.africanum	R /S	S/R	S	S
M.bovis	S	S	R	S
BCG	S	S	R	S

6. Sensibilité aux agents physiques et chimiques :

a. Agents physiques :

M.tuberculosis est très sensible à la chaleur, aux rayons ultra-violetts et aux rayons X. En revanche, il résiste au froid et à la dessiccation. La lyophilisation est d'ailleurs un excellent moyen de conservation [38, 43].

b. Agents chimiques :

Tableau 4: Activité de désinfectants sur les mycobactéries (Temps de contact : 20 mn à 20°C) [41, 43].

	Classification Du niveau d'efficacité	<i>M. smegmatis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. tuberculosis</i>
Glutaraldéhyde alcalin 2 %	Haut niveau d'efficacité	+	+	+
H2O2 6 %	Haut niveau d'efficacité		+	-
Phénols (concentration et composés variés)	Niveau intermédiaire	+	+	+
Iodophores	Niveau intermédiaire	+	+	+
Chlorhexidine	Niveau intermédiaire	+	?	?
Chlorés 100 ppm* 1000 ppm	Niveau intermédiaire	+ +	- +	- +
Ammoniums quaternaires	Bas niveau	-	-	-

*ppm=partie par million

Les produits cités, actifs sur les mycobactéries, sont également actifs sur les autres bactéries et sur les virus.

Les ammoniums quaternaires n'ont pas d'action sur les mycobactéries; cette caractéristique est exploitée dans certains protocoles de décontamination des prélèvements biologiques ^[33].

Certaines mycobactéries telles que *M. chelonae* et *M. fortuitum* résistent aux désinfectants hypochlorés et formolés ^[44].

II. EPIDEMIOLOGIE :

Au Maroc, selon le guide national de lutte anti-tuberculeuse édition 2009 ^[45], la tuberculose est plus fréquente chez l'homme (58%) que chez la femme (42%). C'est une maladie de l'adulte jeune (65%).

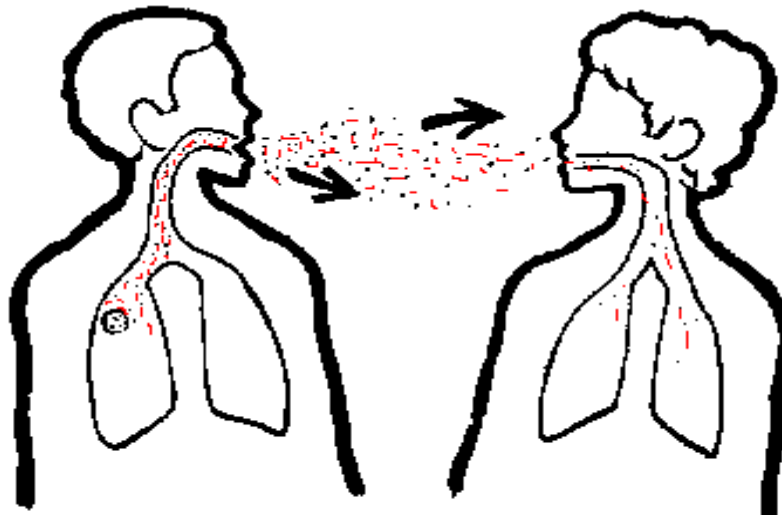
A. Réservoir :

Essentiellement humain ; les sujets infectés porteurs de lésions fermées ne représentent qu'un réservoir potentiel ; les lésions ouvertes représentent une source de dissémination en émettant par l'intermédiaire des crachats, de la toux voire d'une lésion externe ; des mycobactéries dans le milieu extérieur d'une manière continue mais intermittente ^[46].

Le réservoir animal est rarement en cause représenté essentiellement par les animaux domestiques (exemple : chats, chiens ou bovins sont sensibles à *M.bovis* et *M.tuberculosis*), ce réservoir reste souvent dangereux car il est méconnu ^[47].

B. Transmission :

Les bacilles sont transmis par voie aérienne par l'intermédiaire de gouttelettes infectées (droplet nuclei) qui sont produites sous forme d'aérosol lorsque le malade éternue parle ou tousse. Les gouttelettes; de taille minuscule; sèchent rapidement et peuvent rester en suspension dans l'air, sous forme de particules, pendant plusieurs heures. Seules les particules de moins de 10 microns de diamètre peuvent atteindre les alvéoles, les autres (plus de 10 microns) sont arrêtées au niveau des voies respiratoires supérieures et évacuées par le tapis mucociliaire ^[48] (**annexe**).



TB germs spread through the air

Figure 2 : Transmission interhumaine des mycobactéries

L'infection tuberculeuse peut être due également au *Mycobacterium bovis* ; en cas d'une consommation de lait contaminé non bouilli ou non pasteurisé [49].

Le risque annuel d'infection tuberculeuse (RAI) a été peu étudié au Maroc, mais semble avoir régressé depuis 1941. La dernière enquête tuberculine, qui a été effectuée en 1994, a estimé le RAI à 1,1% par an [45].

C. Réceptivité :

Il n'existe pas d'immunité naturelle, la réceptivité est totale et est maximale chez l'enfant âgé de plus de trois ans. Elle est plus forte chez les personnes sous alimentées, fatiguées ou les patients atteints de diabète et de silicose [46].

L'immunité peut être acquise au cours de l'infection ou après vaccination.

Le vaccin par le BCG protège contre la tuberculose. C'est une immunité acquise et à médiation cellulaire lente (six à huit semaines jusqu'à trois mois), c'est une hypersensibilité retardée (HSR). Cette protection n'est pas totale au plan individuel mais c'est une protection de masse efficace [50, 51].

L'immunité cellulaire est testée grâce à l'Intradermoréaction à la tuberculine (IDR), cette dernière permet de préciser le statut tuberculinique d'un individu, elle a un intérêt de dépistage quand on a la notion d'une IDR négative antérieure qui s'est positivée en l'absence de vaccination ou bien que la diamètre d'induration passe de 5 à 6 mm à 30 mm ou un aspect phlyctenulaire, cela doit suspecter une atteinte tuberculeuse [52].

L'IDR consiste en l'injection de 10 unités par voie intradermique stricte d'extrait de BK tués, concentrés et purifiés, sur la face antéro-externe de l'avant bras, réalisant une papule en peau d'orange exsangue 72h après l'injection [33].

La lecture se fait en mesurant le diamètre de l'induration selon la méthode du crayon à bille :

- Négative <5mm.
- Positive si ≥ 5 mm chez le sujet vacciné et si ≥ 10 mm chez le sujet non vacciné.
- Phlyctenulaire : au dessus de 15 mm.

Mais il peut exister des :

- Faux négatifs : lors de déficit immunitaire, de tuberculose grave ou d'infection virale intercurrente : maladies anergisantes.
- Faux positifs par IDR répétées.

D. Facteurs favorisants :

Sont importants pour la survenue de la maladie et sont responsables des aspects épidémiologiques de la tuberculose selon les pays.

1. Transmission :

Elle se fait par contact avec un bacillifère.

La probabilité qu'un individu soit infecté est fonction de:

- La contagiosité du malade (nombre de BK dans l'expectoration, la durée de la toux) ^[53].
- L'environnement (promiscuité, entassement) ^[54].
- Type de contact: on peut distinguer trois types ^[46] :
 - ✓ contact étroit : personne habitant sous le même toit ou partageant la même pièce de nombreuses heures par jour (famille, travail)
 - ✓ contact régulier : personne partageant régulièrement le même lieu fermé (même cantine)
 - ✓ contact occasionnel : personne partageant occasionnellement le même milieu fermé (même étage)

2. Développement d'une tuberculose : Dépend de :

- la quantité des bacilles transmis ^[55],
- surtout des facteurs intrinsèques ^[46]:
 - ✓ Age (< 5ans, adolescents, personnes âgées de plus de 65ans),
 - ✓ Naissance en zone endémique,

- ✓ Pathologie (baisse d'immunité par malnutrition ou infection par VIH)
- ✓ Fatigue, stress.

3. Tuberculose dans l'armée :

Dans l'armée, rappelons qu'il s'agit d'une collectivité reproduisant les conditions de promiscuité particulièrement chez l'incorporé et dans certaines unités comme les sous-marins; d'autant plus au début de l'incorporation stress et fatigue se conjuguent ^[54].

E. Aspects épidémiologiques :

Au Maroc, la tuberculose reste endémique, et la localisation thoracique occupe la première place ^[9].

III. PHYSIOPATHOLOGIE :

Tout commence par la pénétration de la mycobactérie par inhalation. Cette bactérie va être phagocytée par le macrophage et va pouvoir se multiplier en intracellulaire aboutissant à un granulome inflammatoire ou granulome tuberculoïde contenant environ 10^5 bacilles et va durer six semaines [56].

A partir de là deux possibilités se présentent :

- Dans 90% des cas, l'évolution se fait vers la guérison spontanée, en laissant une cicatrice de primo-infection, on parle de la tuberculose infection au cours de laquelle la mycobactérie reste dormante et ne se réveillera qu'à la merci d'une immunodépression [57].
- Dans 10% des cas, l'évolution se fait vers la tuberculose maladie: huit cas sur dix se manifestent dans l'immédiat et les deux cas sur dix restants apparaissent tardivement [58].

Il y aura donc un granulome avec une zone de nécrose caséuse fermée où le nombre de bacilles atteint un million, jusque là, on est devant une tuberculose fermée; c'est-à-dire maladie non contagieuse. Si ça évolue, on assistera à l'augmentation de la quantité de caséum qui va fistuliser les parois environnantes et se déverser vers l'extérieur, entraînant ainsi une émission importante des mycobactéries, environ cent millions: on est devant une tuberculose ouverte c'est-à-dire maladie contagieuse. Le sujet contagieux va en contaminer d'autres [57].

IV. FORMES CLINIQUES:

A. La Tuberculose pulmonaire commune :

La tuberculose pulmonaire est le résultat soit d'une surinfection exogène à partir d'un sujet très contagieux (tuberculose primaire), soit d'une réinfection tuberculeuse, granulome ou tuberculose pulmonaire insuffisamment ou non traitée ayant laissé en place des bacilles vivants (tuberculose secondaire) ^[59].

Généralement les lésions anatomiques et la symptomatologie clinique ne sont pas proportionnelles.

Dans certains cas le tableau clinique est celui d'une maladie respiratoire aiguë : hémoptysie, épanchement pleural, pneumothorax, infection broncho-pulmonaire aiguë, bronchites récidivantes ne régressant pas de façon satisfaisante sous antibiothérapie usuelle. Le plus souvent, les symptômes s'installent progressivement sur plusieurs semaines ou plusieurs mois et persistent. La toux est le signe le plus fréquent ; elle est d'abord sèche puis productive. L'asthénie ne cède pas au repos, l'amaigrissement peut être rapide, la fièvre bien tolérée passe souvent inaperçue et accompagnée d'hypersudation à prédominance nocturne ^[60].

La progression des lésions parenchymateuses ou pleurales peut expliquer une dyspnée ; d'abord à l'effort, puis permanente.

La tuberculose complique le plus souvent le déficit immunitaire dû au VIH. Lorsque les deux infections coexistent, l'effet est cumulatif : l'infection par le VIH exacerbe la tuberculose et celle-ci pourrait accélérer la progression de l'infection par le VIH ^[61].

Chez les sujets séropositifs pour le VIH, la symptomatologie peut être atypique ; une fièvre prolongée, une perte de poids inexpliquée

constituent des signes d'appel suffisants pour initier une recherche de tuberculose [33].

B. La Tuberculose extra pulmonaire :

Les malades présentant une tuberculose extrapulmonaire ne sont pas contagieux s'il n'y a pas de localisations pulmonaires associées [33]. Néanmoins elle doit être systématiquement recherchée en cas de tuberculose pulmonaire. On peut avoir :

1. La pleurésie tuberculeuse :

Elle est en général unilatérale, mais peut être bilatérale dans un quart des cas. Elle est isolée ou associée à l'atteinte d'une autre séreuse ou à une tuberculose pulmonaire. Le liquide est citrin, sérofibrineux, riche en lymphocytes. La pleurésie hémorragique et le pneumothorax sont peu fréquents. Le BK recherché par l'examen direct ou la culture est rarement retrouvé. La biopsie pleurale à l'aiguille d'Abrams permet un diagnostic rapide lorsqu'elle montre des granulomes caséux [62].

2. La méningite tuberculeuse :

Elle se raréfie depuis la généralisation de la vaccination par le BCG dans le cadre du programme nationale de lutte antituberculeuse. Par contre le développement du SIDA risque de faire remonter sa prévalence. Les enfants et les adultes jeunes sont surtout atteints. Dans sa forme typique la méningite basilaire associe un syndrome méningé et un syndrome infectieux progressif et peu intense : fièvre au long cours, otalgie, vomissement. La raideur méningée est moins nette qu'au cours des méningites purulentes. A la ponction lombaire, le LCR est classiquement clair, avec une lymphocytose, une hyperalbuminorachie et une hypoglucorachie [62].

Sa gravité nécessite la mise en route rapide du traitement.

La létalité avoisine 30%. Des séquelles fonctionnelles s'observent dans plus d'un tiers des cas : hémiplégie, paralysie des paires crâniennes, cécité par atrophie optique, troubles sensoriels, calcifications intracrâniennes [63, 64], ...

3. La tuberculose ganglionnaire :

Très fréquente au niveau des tropiques, les adénopathies médiastinales et hilaires sont en général de taille modérée, mais peuvent parfois obstruer une bronche. En périphérie, les adénopathies sont surtout cervicales, puis axillaires et inguinales.

Initialement fermes et mobiles, les ganglions sont ensuite fixés par une péri-adénite avec peu de signes inflammatoires. Les fistules externes à bord irrégulier laissent ensuite sourdre un pus caséux qui se recouvre de croûtes [62].

Le diagnostic repose sur la recherche de BK et la biopsie ganglionnaire.

4. La Tuberculose ostéo-articulaire :

La forme la plus fréquente est le mal de pott qui est l'atteinte de la partie antérieure de la colonne vertébrale. Le BK peut atteindre une ou plusieurs vertèbres par voie hématogène. Il provoque une nécrose caséuse des bords ou du stroma des corps vertébraux qui s'effondrent et déforment le rachis avec apparition d'une gibbosité. La moelle et les racines nerveuses peuvent être lésées par des abcès intrarachidiens ou des lésions osseuses [62, 65].

Les Symptômes rachidiens sont des douleurs radiculaires ou vertébrales, des raideurs localisées du rachis avec le signe de la sonnette.

5. Tuberculose urogénitale :

Au niveau urinaire, la cystite révèle 60 à 70 % des tuberculoses urinaires. Cette cystite associe trois éléments classiques [62, 66] :

- pollakiurie à prédominance nocturne, parfois associée à une polyurie ;
- brûlures mictionnelles avec ou sans hématurie;
- pyurie avec pH urinaire souvent acide.

Toute cystite rebelle ou résistante aux traitements habituels doit conduire à la recherche de mycobactéries.

Au niveau génital, l'apparition progressive et indolore d'un nodule épидидymaire froid doit faire suspecter une tuberculose.

La fistule scrotale ou l'atteinte en masse du déférent ou d'une vésicule séminale ; certaines hydrocèles, certaines urétrites traînantes, ou certains troubles génitaux, avec stérilités par azoospermie, peuvent faire évoquer également la tuberculose génitales [67, 68].

Et au niveau néphrotique, les douleurs lombaires sont dues à :

- Des coliques néphrétiques suite à une urétérite sténosante, ou à une obstruction temporaire par un calcul ou un caillot ou par des débris caséux.
- La pyélonéphrite aiguë souvent récidivante dont le diagnostic ne sera soupçonné que devant l'inefficacité d'une thérapeutique dirigée contre une infection urinaire à germes banals.
- L'altération de l'état général, avec signes de suppuration et perception clinique d'un gros rein doit faire suspecter une pyonéphrose d'origine tuberculeuse.

L'insuffisance rénale avancée découverte à l'occasion d'une protéinurie, d'une augmentation de l'urée sanguine, peut traduire l'évolution silencieuse d'une atteinte bilatérale des reins et de la voie excrétrice au cours de la tuberculose [62].

6. La Miliaire tuberculeuse :

Elle traduit une dissémination du bacille tuberculeux par voie hématogène. Les lésions tuberculeuses s'étendent à un grand nombre d'organes ; d'où le terme de « tuberculoses disséminées » préféré par certains auteurs. C'est une forme grave mettant en jeu le pronostic vital. Elle représente moins de 2% des tuberculoses et environ 10% des tuberculoses extrapulmonaires [69].

Elle réalise le tableau d'une maladie aiguë généralisée ; le début est variable, brutal avec ascension thermique à 40°C, mais il est le plus souvent progressif avec une asthénie croissante, un amaigrissement, des céphalées, des nausées et une insomnie.

A l'examen on objective :

- Un gargouillement de la fosse iliaque associé à un météorisme;
- Une hépato-splénomégalie discrète.

Il convient de rechercher d'autres localisations. L'examen de fond d'œil peut mettre en évidence des granulations choroïdiennes, témoignant d'une dissémination dans la circulation céphalique.

7. Autres localisations possibles [70, 71, 72, 73, 74, 75]:

On peut citer : la tuberculose péritonéale, la péricardite tuberculeuse, la tuberculose hépatique et/ou splénique, la tuberculose iléo-cæcale, la tuberculose oculaire, la tuberculose cutanée etc....

V. DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE : LA DEMARCHE CONDUISANT AU TRAITEMENT :

Le diagnostic de la tuberculose est évoqué sur des signes généraux, des signes cliniques respiratoires ou extraréspiratoires, des examens complémentaires ou du fait d'un contexte épidémiologique particulier. Le diagnostic évoqué, des mesures d'isolement respiratoire sont prises durant la courte période diagnostique. Cette période doit conduire à éliminer le diagnostic, ou à mettre sous traitement dans la semaine les formes contagieuses et dans le mois les formes non contagieuses, en particulier extraréspiratoires. Cette mise sous traitement, avant ou après confirmation du diagnostic, est précédée d'une évaluation clinique et biologique visant à faire le bilan des localisations de la maladie, à rechercher des facteurs favorisants, en particulier une immunodépression, à rechercher des contre-indications à certains traitements antituberculeux, à rechercher des éléments orientant vers une résistance, et à faire le bilan psychosocial des éventuels freins au traitement ^[60].

A. Contexte épidémiologique évocateur :

Le diagnostic doit être évoqué largement chez une personne en provenance d'un pays de forte prévalence, chez une personne infectée par le VIH, sous corticoïdes ou sous traitement immunodépresseur ou anti-TNF, ou bien dans l'entourage d'un cas de tuberculose. Cependant, il ne faut pas négliger la possibilité de survenue de tuberculose en dehors de tout contexte épidémiologique particulier ^[60, 76].

B. Diagnostic clinique :

1. Signes généraux :

L'altération de l'état général est fréquente lors de la tuberculose, mais est souvent négligée par les patients qui lui attribuent volontiers d'autres causes.

L'asthénie est fréquente et peut persister tout au long du traitement. L'amaigrissement peut, dans les formes graves, dépasser 10 kg. La reconstruction de la courbe de poids aide à déterminer le début de la maladie. La fièvre, généralement peu élevée, a rarement été vérifiée par la mesure de la température. Elle peut prendre un aspect oscillant avec frissons dans les formes sévères. Les sueurs nocturnes sont très fréquentes et doivent être systématiquement recherchées. L'ensemble de ces signes doit faire évoquer le diagnostic, en particulier devant une persistance de plus de trois semaines.

Chez une personne en provenance d'un pays de forte prévalence ou dans une situation épidémiologique particulière, le diagnostic est souvent évoqué devant un tel tableau. En revanche, il est souvent négligé chez un sujet considéré comme non à risque, en dehors d'une situation épidémiologique particulière [60].

2. Signes cliniques respiratoires :

Les signes fonctionnels sont dominés par la toux qui devient de plus en plus fréquente au cours des semaines et ne cède pas aux traitements symptomatiques. Elle peut être productive ou non productive. Les hémoptysies ne surviennent que dans 10% des cas, mais inquiètent le malade et orientent rapidement vers le diagnostic. La dyspnée traduit une forme évoluée de la maladie ou une atteinte pleurale. Les douleurs thoraciques sont peu fréquentes. Là encore, la persistance des signes plus de trois semaines doit orienter vers le diagnostic et conduire à prescrire une radiographie. L'examen

clinique du thorax est remarquablement négatif dans les tuberculoses pulmonaires, contrastant en cela avec l'importance des signes cliniques et radiologiques [77].

3. Signes cliniques extrarespiratoires :

Ces signes sont très nombreux et dépendent de la localisation de la maladie [78]:

- Signes urinaires d'une tuberculose rénale ;
- Atteinte épидидymaire d'une tuberculose génitale masculine;
- Stérilité d'une tuberculose génitale féminine ;
- Adénopathie clinique fluctuante et parfois même douloureuse, d'une tuberculose ganglionnaire ;
- Douleur lombaire ou articulaire d'une tuberculose osseuse ;
- Dyspnée et douleur thoracique d'une péricardite tuberculeuse;
- Troubles de la conscience et hyponatrémie d'une tuberculose méningée ;
- Ictère d'une tuberculose hépatique miliaire ou par compression des voies biliaires.

C. Rechercher une forme contagieuse :

Chez les malades suspects de tuberculose pulmonaire, il est important, dès la suspicion du diagnostic, d'éliminer une forme contagieuse. La radiographie de thorax prescrite et réalisée dès le constat des signes cliniques est cruciale [60].

S'il existe une cavité ou une image pulmonaire d'allure évolutive, l'isolement est immédiatement mis en place, avant même la confirmation diagnostique et aussi longtemps que l'on n'aura pas la certitude de l'absence de bacille à l'examen direct.

Même en l'absence de suspicion de forme contagieuse, on prendra, en milieu hospitalier, des précautions particulières pour séparer les malades suspects de tuberculose des patients immunodéprimés, en particulier séropositifs pour le VIH. Dans la mesure du possible, les malades suspects de tuberculose ne seront pas hospitalisés dans les mêmes unités que des patients séropositifs par le VIH ou recevant un traitement immunodépresseur [79].

D. L'Imagerie :

Les examens d'imagerie seront prescrits en fonction des signes cliniques.

1. Radiographie thoracique :

Elle est parfois suffisante pour le diagnostic de tuberculose. Les images les plus typiques associent des opacités nodulaires plus ou moins confluentes, des infiltrations péribroncho-vasculaires et des cavitations. Les lésions touchent avec une grande prédilection le segment postérieur du lobe supérieur ou le segment apical du lobe inférieur. Une rétraction des lobes supérieurs témoigne de l'ancienneté de l'infection. Les calcifications ne sont observées que sur les lésions anciennes. D'autres aspects radiologiques peuvent être observés [60].

Les images miliaires nécessitent, pour être vues, un cliché de bonne qualité.

Chez les sujets fortement immunodéprimés, le cliché peut être quasiment normal, malgré une tuberculose pulmonaire.

Les formes ganglionnaires médiastinales et pleurales témoignent fréquemment d'une contamination semi-récente ou récente.

Chez les personnes âgées, les tuberculoses lobaires inférieures sont plus fréquentes.

Les formes pneumoniques de tuberculose sont des formes graves.

Dans les formes atypiques, c'est la non-régression des signes qui avaient initialement fait évoquer une infection respiratoire banale qui attirera l'attention. La récupération de clichés anciens et l'analyse évolutive des lésions est un élément important du diagnostic de ces formes [60].

2. Tomodensitométrie thoracique (scanner) :

Le scanner thoracique est réservé aux quelques formes complexes dont l'image ne peut être correctement interprétée sur les clichés standards. Si le scanner est, en règle générale, inutile dans une tuberculose pulmonaire dont on a la preuve bactériologique, il peut être cependant utile, notamment pour les tuberculoses ganglionnaires, les atteintes pleurales complexes, les cas pour lesquels un diagnostic associé est discuté et pour les tuberculoses de l'enfant. On veillera à ne pas prendre, lors de cet examen, de risque de contamination des autres patients. Cet examen sera repoussé autant que faire se peut à une période où le malade n'est plus contagieux [76].

3. L'imagerie extra-thoracique :

L'imagerie extra-thoracique est, elle, le plus souvent indispensable au diagnostic des tuberculoses extrapulmonaires [60].

E. Biologie (exceptée la bactériologie):

On recherche sur la NFS (numération formule sanguine) l'absence de signes évocateurs d'une atteinte médullaire. L'absence de syndrome inflammatoire n'élimine pas le diagnostic.

On recherche de façon systématique une hyponatrémie qui, non expliquée par ailleurs, fait suspecter une méningite tuberculeuse. Une leucocyturie aseptique à l'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) doit faire pratiquer une recherche de BK dans les urines (cette recherche est inutile en l'absence de leucocyturie ou d'immunodépression grave). La normalité des transaminases et l'absence de cholestase témoignent de l'absence probable d'atteinte hépatique. Il est recommandé de pratiquer des sérologies de l'hépatite B et C en cas d'anomalie des transaminases.

La sérologie VIH est justifiée, compte tenu de la fréquence de la coexistence des deux infections VIH et tuberculose, et sera proposée systématiquement [80].

F. Histologie :

La découverte d'un granulome épithélioïde et gigantofolliculaire oriente vers le diagnostic de la tuberculose. Un contexte évocateur, la présence de nécrose caséeuse, l'existence de BAAR à la coloration de Ziehl renforcent encore cette suspicion, mais la bactériologie est nécessaire pour confirmer le diagnostic et éliminer, en particulier, une mycobactérie non tuberculeuse [60].

G. Confirmation du diagnostic : La bactériologie :

Les arguments cliniques, radiologiques et histologiques (anatomopathologiques) ne sont pas spécifiques de la tuberculose et ne peuvent donc permettre qu'un diagnostic présomptif. C'est la mise en évidence de bacilles de la tuberculose dans les produits pathologiques qui constitue le diagnostic définitif. De plus, le suivi bactériologique d'un patient tuberculeux mis sous antituberculeux est indispensable pour confirmer la stérilisation des lésions [81].

1. Choix des prélèvements :

a. Formes pulmonaires :

Dans les formes pulmonaires, on privilégie les produits de l'expectoration spontanée.

En effet, quand la toux est productive, l'expectoration est préférable au tubage gastrique. Les prélèvements d'aspect salivaire ne conviennent pas. Les prélèvements doivent être faits dans de bonnes conditions d'hygiène (récipient large, à fermeture hermétique), afin d'assurer la sécurité du personnel (port de masques de protection respiratoire) ^[12].

Comme les émissions de bacilles de la tuberculose sont intermittentes, les examens bactériologiques doivent être répétés. Le nombre optimal de prélèvements est de 3 (1 par jour, 3 jours consécutifs), à réaliser avant la mise en route du traitement antituberculeux.

S'il est difficile d'obtenir une expectoration ou si la recherche de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) dans l'expectoration est négative, malgré un contexte clinique évocateur, deux autres méthodes de prélèvement sont proposées ^[60]:

- Le prélèvement du contenu gastrique par « tubage », réalisé le matin au réveil, à jeun, avant le lever du patient, ce qui nécessite une hospitalisation; elle peut durer trois jours si les premiers prélèvements sont négatifs. Il est plus volontiers effectué en milieu pédiatrique et gériatrique;
- L'aspiration des sécrétions bronchiques au cours d'une fibroscopie bronchique et, éventuellement, la biopsie d'une lésion endobronchique. En l'absence de sécrétions, on procède à un lavage bronchoalvéolaire avec un faible volume (20 ml) d'eau distillée de préférence. Le recours à la fibroscopie bronchique n'est justifié qu'après trois prélèvements par tubage négatifs. Chez l'enfant, il

permet de repérer une adénopathie fistulisée ou une volumineuse adénopathie latéro-trachéale droite pouvant faire courir un risque vital. Il est contre-indiqué en cas d'images évocatrices de tuberculose à la radiographie pulmonaire en raison des risques de contagion pour l'opérateur et les difficultés pour décontaminer le fibroscope.

b. Formes extrapulmonaires :

En cas de suspicion de tuberculose rénale, les urines sont prélevées trois jours de suite, si possible après restriction hydrique.

Pour le diagnostic de méningite tuberculeuse, le liquide céphalorachidien (LCR) est prélevé par ponction lombaire. Afin d'optimiser la découverte de bacilles de la tuberculose à l'examen microscopique et en culture, il est souhaitable de prélever au moins 2ml de LCR et de signaler au laboratoire la suspicion de tuberculose.

En cas d'adénopathies, l'exérèse est préférable à la ponction-aspiration ^[82].

Dans les formes disséminées, fréquentes chez les immunodéprimés, notamment les patients séropositifs pour le VIH, *M. tuberculosis* peut être cherché par hémoculture. Le prélèvement est réalisé sur tube spécial pour centrifugation-lyse, soit sur flacon spécial contenant un milieu de culture lytique radioactif ou froid. Le prélèvement de sang sur tube conventionnel n'est pas recommandé.

En cas de biopsie (plèvre, péritoine, bronche, os, péricarde, foie, ganglion lymphatique, etc.), il convient de fractionner le prélèvement ^[83]:

➤ Un premier fragment est placé dans un tube sec, destiné à la bactériologie. Si le fragment est très petit et si l'analyse ne peut être effectuée rapidement, on ajoute quelques gouttes d'eau distillée

stérile (et non de sérum salé isotonique) pour l'examen bactériologique. La culture positive apportera la preuve formelle du diagnostic de tuberculose;

➤ Un second fragment est destiné à l'examen anatomopathologique. Il peut être placé dans le formol, mais pas dans le liquide de Bouin qui altère l'acido-alcoolo-résistance. La présence de granulomes épithélio-gigantocellulaires est un argument présomptif dans un contexte clinique évocateur. La nécrose caséuse constitue la lésion spécifique.

Il faut éviter la contamination des prélèvements par l'eau de distribution du réseau ou d'autres liquides qui peuvent contenir des mycobactéries de l'environnement. Le rinçage de bouche avant expectoration est déconseillé et l'usage de récipients rincés à l'eau du robinet est proscrit. N'ajouter ni conservateur ni agents fixateurs aux prélèvements. Les prélèvements sont rapidement transportés au laboratoire pour éviter la multiplication d'autres bactéries ou champignons. Les prélèvements sont conservés au froid (+4 °C) en attendant leur manipulation [37].

2. Démarche générale :

Le diagnostic bactériologique de la tuberculose repose sur la mise en évidence des bacilles de la tuberculose. Les méthodes bactériologiques à mettre en œuvre comprennent la recherche de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) par l'examen microscopique, l'amplification génique (méthodes rapides), la mise en culture sur milieux spécifiques, l'identification par méthode moléculaire ou biochimique des bacilles obtenus en culture et les tests de sensibilité aux antituberculeux [39].

a. Méthodes rapides :

Actuellement, il existe deux techniques bien différentes qui permettent de donner une réponse en quelques heures sur la

présence du bacille de la tuberculose dans un produit pathologique. Il s'agit de l'examen microscopique et de l'amplification génique.

a.1.L'examen microscopique :

Cet examen peut être effectué soit directement sur le produit pathologique soit après fluidification et décontamination. Le caractère d'acido-alcool-résistance des mycobactéries permet l'utilisation des colorations spécifiques : coloration de Ziehl Neelsen et auramine. Pour les laboratoires qui manipulent beaucoup d'échantillons, il est préférable d'utiliser l'auramine, la lecture s'effectuant à l'objectif 40 est beaucoup plus rapide que celle du Ziehl qui est réalisée à l'objectif 100 à l'immersion. Une positivité de l'auramine doit être cependant confirmée par une coloration de Ziehl qui permettra en plus de dénombrer les bacilles par champ microscopique.

Cet examen, peu coûteux, permet un dépistage rapide en quelques heures, cependant il présente deux inconvénients : le manque de sensibilité et de spécificité. Il faut en effet plus de 10^4 bacilles par millilitre de produit pathologique pour que l'examen soit positif, et les différentes études montrent que le pourcentage de sensibilité est d'environ 50 % pour les échantillons d'origine pulmonaire et qu'il est encore plus faible pour les extrapulmonaires [83].

a.2.Amplification génique :

Actuellement, il existe plusieurs techniques d'amplification génique permettant la détection de *M. tuberculosis* à partir des produits pathologiques.

Amplification par PCR :

Réaction d'amplification génique par Polymerase Chain Reaction (PCR) : Il s'agit de l'amplification d'un fragment du gène codant

pour l'ARN 16S de *M. tuberculosis*. Cette technique a l'avantage d'utiliser l'uracile N glycosylase qui permet d'éviter les contaminations, d'autre part cette technique possède un contrôle interne et peut être utilisée de façon manuelle ou automatisée (Cobas) [85].

Amplification de l'ARN par TMA :

Réaction d'amplification transcriptionnelle de l'ARN par Transcription Mediated Amplification (TMA) : Cette technique fait appel à l'amplification isotherme d'une séquence spécifique de l'ARN 16S générant des copies d'ARN. Il n'existe pas de contrôle interne et la technique est entièrement manuelle [39].

Amplification par LCR :

Réaction d'amplification génique par Ligase Chain Reaction (LCR) : C'est un procédé d'amplification par réalisation de cycle de ligature de 2 sondes nucléotidiques spécifiques de *M. tuberculosis* et choisies de manière à être juxtaposées lorsqu'elles s'hybrident à l'ADN cible. Le système de détection est basé sur un procédé d'immunocapture et cette technique est automatisée [39].

Amplification par SDA :

Réaction d'amplification par Strand Displacement Amplification (SDA) : Il s'agit d'une amplification isotherme d'ADN réalisée dans un automate qui couple amplification et détection. Il existe un contrôle interne automatique [39].

Les puces à ADN :

Une technique d'avenir : les puces à ADN, technologie en développement qui a été appliquée aux mycobactéries par Troesh [86]. Les résultats obtenus semblent d'un haut degré de discrimination puisque cette technique permet non seulement

d'identifier les mycobactéries non tuberculeuses (MNT) mais aussi de séparer les différentes espèces du complexe *tuberculosis*.

Comparaison des différentes techniques :

Les études sont nombreuses, cependant il est difficile de comparer les différents pourcentages de sensibilité et spécificité des différentes techniques étant donné les disparités qu'il existe selon les échantillons testés. L'ensemble des publications donne des pourcentages de sensibilité compris entre 96 [87] et 100% [88, 89] pour les échantillons pulmonaires dont l'examen direct est positif. En revanche ces pourcentages semblent varier de façon importante selon les techniques pour les échantillons dont l'examen direct est négatif. Garrino et al. [90] utilisant la LCR trouvent seulement 27 % de sensibilité, Johansen et al. [91] 43 % avec la SDA, Bogard et al. [87] 71,1% avec la PCR Roche et O'Sullivan et al. [89] 75% avec l'AMTD. Ces différences existent pour les prélèvements d'origine pulmonaire et sont majorées pour les extrapulmonaires.

b. La culture :

La culture reste donc actuellement la technique la plus sensible pour la mise en évidence de *M. tuberculosis* et donc la méthode de référence pour les autres techniques.

Les échantillons prélevés dans des conditions d'asepsie rigoureuse peuvent être ensemencés directement ou si possible après centrifugation de façon à concentrer les bactéries. Les échantillons susceptibles de contenir des bactéries à croissance rapide feront l'objet d'une fluidification-décontamination ce qui a pour but d'homogénéiser les bactéries dans le produit et de détruire les bactéries indésirables. Les techniques classiques de Petroff (soude à 4 %), de Tacquet et Tison (lauryl-sulfate et soude à 1 %) sont progressivement abandonnées au profit de celle de Kubica [148] (Nacetyl-L-cystéine et soude) mieux adaptée aux nouveaux milieux

de culture ^[92]. La méthode est considérée comme acceptable si 2 à 4 % des cultures sont contaminées.

Très longtemps, seuls les milieux solides de Löwenstein-Jensen et Coletsos (enrichi en pyruvate) à base d'oeuf coagulé ont été utilisés. Mais le délai de croissance de *M. tuberculosis* (15 à 28 jours) sur ces milieux a amené les industriels à formuler différents milieux liquides permettant une pousse plus rapide, et surtout à mettre au point des systèmes de détection de croissance de plus en plus performants. La première technique commercialisée en milieu liquide fut la méthode de respirométrie radiométrique ou système Bactec 460 TB ^[93]. Cette méthode est basée sur la mesure du C¹⁴O₂ produit par la croissance des mycobactéries dans un milieu 7H12B contenant de l'acide palmitique radiomarqué au C¹⁴. Selon les études ^[94, 95], le délai moyen de culture varie de 8 à 11,8 jours quand le frottis est positif à l'examen microscopique et 14 à 17,8 jours quand il est négatif alors que le délai d'apparition des colonies sur milieu solide est respectivement de 18 et 28 jours. Cette méthode présente des avantages certains, mais aussi des inconvénients : l'échantillon doit être ensemencé à la seringue et les flacons contiennent un produit radioactif dont l'élimination est difficile et coûteuse. Aussi les années suivantes, plusieurs techniques de détection de croissance non radioactives en milieu liquide ont été mises au point. Actuellement il existe plusieurs milieux commercialisés:

➤ La méthode Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT) manuelle et automatisable (Bactec 960 TB) : il s'agit d'un tube contenant un sel de ruthénium qui émet une fluorescence visible en lumière violette lorsque la pression en oxygène diminue dans le tube. Les délais de croissance de *M. tuberculosis* sont proches de ceux obtenus avec le Bactec 460 TB ^[96, 97]. Ce milieu ne peut pas être utilisé pour la recherche de mycobactéries dans le sang. Mais cette méthode tend à remplacer la précédente, vue l'absence des produits radioactifs et la facilité d'ensemencement.

- La méthode Bactec 9000MB: il s'agit d'une adaptation de la série des Bactec 9000 aux mycobactéries. Le principe est identique à celui du MGIT, la croissance est détectée par l'apparition d'une fluorescence liée à la diminution de la pression en oxygène. Ses performances semblent identiques au Bactec 960 TB pour les échantillons positifs à l'examen microscopique, mais inférieures pour les négatifs ^[98];
- La méthode BacT/Alert 3D automatisée dont le principe repose sur l'acidification du milieu provoquée par le métabolisme bactérien, qui entraîne une modification de l'indicateur coloré contenu dans une pastille au fond du flacon. Le délai moyen de croissance est, selon les études, de 13 à 16 jours ^[99, 100];
- Le dispositif SEPTI CHEK AFB est constitué d'un système diphasique liquide et solide. Le délai moyen de détection de la croissance est selon Sharp et al. ^[101] de 16 jours. Pour réduire le délai de détection, il est nécessaire de réaliser un examen microscopique systématique sur le milieu liquide car il n'existe aucun indicateur de croissance dans ce milieu ;
- Le milieu MBRedox, tube de 5mL de milieu de Kirchner contenant un sel de tétrazolium qui, incolore en milieu oxygéné, se transforme en formazan de couleur rouge en atmosphère réduite. La présence d'une culture de *M. tuberculosis* se traduit par l'apparition de grains rouge-violet dont la lecture est parfois délicate. Le gain de temps de croissance par rapport au milieu de Löwenstein semble moins important qu'avec les autres milieux liquides ^[102];
- Le milieu Bio FM (BIO RAD), tube de 5mL de milieu 7H12B enrichi en OADC. La croissance des souches de mycobactéries est détectée par un indicateur de positivité qui entraîne une coloration des cultures en bleu foncé pouvant aller jusqu'au violet.

Quelle que soit la technique utilisée en milieu liquide, la contamination par des bactéries à pousse rapide est plus fréquente que sur les milieux solides. Il est donc nécessaire d'ajouter pour

tous, un mélange d'antibiotiques et d'antifongiques dont la composition varie selon le fabriquant.

En conclusion, les milieux liquides apportent un gain incontestable dans le délai de diagnostic de *M. tuberculosis* et son utilisation semble justifiée dans les laboratoires de routine. Cependant, comme toute technique, ils présentent des inconvénients, l'isolement plus fréquent de bactéries non tuberculeuses sans implication pathologique, la difficulté de reconnaître la morphologie des colonies et leur coût. D'autre part, il est à noter que si certaines souches ne poussent qu'en milieu liquide, d'autres ne poussent qu'en milieu solide [100] et la méthode de culture la plus performante pour l'isolement de *M. tuberculosis* associe donc milieux liquides et solides.

c. L'identification :

Étant donné la fréquence d'isolement des MNT, l'identification du complexe *tuberculosis* doit être obligatoire et il est d'autre part recommandé de différencier les espèces *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis* et *M. bovis* BCG à l'intérieur de ce complexe.

c.1. Identification biochimique:

Elle est basée sur les caractéristiques biochimiques de ces mycobactéries, c'est-à dire catalase thermosensible, nitrate réductase et niacine test (**voir paragraphe des caractères biochimiques cité avant**). Actuellement l'identification est basée sur la détection d'antigènes.

c.2. Hybridation moléculaire :

La technique d'hybridation moléculaire a supplanté les méthodes d'identification biochimiques classiques. Actuellement trois techniques sont commercialisées :

- Accuprobe: il s'agit de sondes froides marquées par un ester d'acridinium qui permet le diagnostic différentiel entre le complexe *tuberculosis* et les mycobactéries non tuberculeuses les plus fréquemment rencontrées au laboratoire (*M.avium*, *M.intracellulare*, *M.kansasii* et *M.gordonæ*). Ces sondes sont très spécifiques ^[103], elles peuvent être utilisées à partir des milieux solides et liquides. L'identification basée sur la formation de complexes ADN-ARN ribosomiaux est réalisée en deux heures ;
- INNO LiPA Mycobacteria: les sondes spécifiques sont immobilisées sur une bandelette, la réaction d'hybridation se fait après amplification d'une région de l'ADN codant pour l'espace intergénique 16-23S. Cette technique permet d'identifier les huit espèces les plus fréquemment isolées au laboratoire qui sont en plus de celle identifiées par Accuprobe, *M.scrofulaceum*, *M.xenopi* et *M.chelonæ*. En 2003 la commercialisation d'INNO LiPA Mycobacteria V2 ce qui va permettre l'identification de 16 espèces. La sensibilité et spécificité de cette technique est identique à celle d'Accuprobe ^[104], elle présente l'avantage de confirmer l'appartenance de la souche à la famille des mycobactéries dans le cas où l'identification d'espèce n'est pas possible, d'identifier un plus grand nombre d'espèces. En revanche, elle nécessite une amplification, donc un temps de manipulation beaucoup plus long et son coût est élevé;
- GenoType Mycobacteria: il s'agit du même principe qu'INNO LiPA, cette méthode nécessite une amplification de l'espace intergénique 16-23S suivie d'une hybridation sur une bandelette où sont fixées des sondes biotinylées. Elle permet le diagnostic du complexe *tuberculosis* et de 15 espèces de MNT. Les évaluations de cette technique récemment commercialisée montrent des résultats proches des techniques déjà décrites ^[105, 106].

Il existe d'autres techniques de biologie moléculaire comme la PCR Restriction Enzyme Analysis (PRA) ^[107] ou le séquençage de l'ARN 16S ^[108] qui permettent l'identification du complexe *tuberculosis*,

mais ces techniques sont difficilement applicables dans un laboratoire de routine.

c.3. Conclusion

Jusqu'à ces dernières années, la biologie moléculaire ne permettait pas de différencier les différentes espèces du complexe *tuberculosis*, ainsi l'identification basée sur des tests biochimiques comme la recherche d'acide nicotinique (niacine test), d'uréase, de nitrate réductase, la croissance en présence de TCH (acide thiophène-2-carboxylique), de cyclosérine et pyrazinamide reste la technique classiquement utilisée. Les premières techniques de biologie moléculaire permettant la différenciation d'espèces reposent sur l'utilisation des gènes MIRU ^[109], mais cette technique est lourde et reste difficilement applicable en routine.

d. Étude de la sensibilité aux antibiotiques :

d.1. Les méthodes phénotypiques :

La méthode des proportions réalisée soit en milieu solide ^[110] soit en milieu liquide, est la technique de référence actuellement la plus utilisée. Elle permet de déterminer au sein d'une population donnée le nombre de mutants résistants ceci grâce à l'utilisation d'un témoin sans antibiotique, inoculé avec une dilution au 1/100 pour les milieux liquides. Sur milieux solides elle peut être effectuée directement à partir de l'échantillon décontaminé si l'examen microscopique est positif, ou à partir de la primoculture s'il est négatif. Les techniques en milieux liquides utilisant le Bactec MGIT 960 et le système Bactec 460 TB donnent des résultats concordants avec les milieux solides ^[111] et ont l'avantage de donner ces résultats en 5 à 10 jours. Dès 2003, la technique sera validée pour le BacT/Alert 3D. Quelle que soit la technique, les antibiotiques à tester sont l'isoniazide, la rifampicine, l'éthambutol, la streptomycine et le pyrazinamide. Pour les souches multirésistantes, il est

nécessaire de tester d'autres antibiotiques tels que des fluoroquinolones ou aminosides, dans ce cas on peut utiliser la technique de Heiffets ^[112] qui revient à déterminer la concentration minimale inhibitrice.

d.2. Les méthodes génotypiques

Ces techniques consistent à détecter des mutations dans les gènes codant pour les cibles de l'antibiotique, principal mécanisme de résistance pour les mycobactéries. La plupart des mutations associées à la résistance sont maintenant connues et les détecter par séquençage après amplification de la région à étudier est aisé, mais il s'agit d'une technique nécessitant un matériel spécialisé non disponible dans les laboratoires de routine.

Étant donné l'importance de la détection de la résistance à la rifampicine, témoin dans la majorité des cas de la multirésistance, le test INNO LiPARifTB ; dont la sensibilité est selon les études de 90 à 97% et la spécificité proche de 100% ^[113] ; est commercialisé depuis plusieurs années. La technique est identique à celle décrite pour l'identification des mycobactéries, mais il s'agit là de l'amplification d'une partie du gène *rpoB* et de l'hybridation avec des sondes spécifiques de séquences génomiques sauvages ou mutées de la sous-unité b de l'ARN polymérase. Étant donné la faible incidence des souches multirésistantes ^[114] et le coût élevé du test, celui-ci est peu utilisé. La détection des résistances aux autres antituberculeux par les méthodes de biologie moléculaire reste du domaine des laboratoires spécialisés.

e. Diagnostic sérologique

Dans le domaine de l'immunologie, les techniques de détection des anticorps sont de plus en plus performantes, mais la difficulté d'obtenir un test correct pour la tuberculose est liée à la détermination d'épitopes spécifiques de *M. tuberculosis*. Il existe une

technique Elisa commercialisée (ANDA TB) qui utilise l'antigène A60, antigène commun à toutes les mycobactéries dont les résultats sont peu satisfaisants, surtout dans les formes extrapulmonaires ^[115]. De nombreux essais ^[116, 117, 118] sont actuellement en cours de développement, mais restent du domaine de la recherche.

f. Conclusion

En tenant compte des nouvelles méthodes à la disposition d'un laboratoire de routine, la première étape du diagnostic reste l'examen microscopique. S'il est positif, dans la majorité des cas, le clinicien pourra orienter son diagnostic vers une tuberculose ou une mycobactériose. La culture est l'étape essentielle et indispensable, actuellement l'idéal serait de combiner milieux liquides et solides pour augmenter la rapidité de croissance et la sensibilité. L'identification de *M. tuberculosis* à partir des cultures doit être réalisée par les tests d'hybridation qui donnent une réponse en quelques heures. Les tests de sensibilité réalisés en milieu liquide apportent un gain de temps important par rapport au milieu solide. Donc actuellement, si l'examen microscopique est positif, le diagnostic de complexe *tuberculosis* peut être donné en 7 à 10 jours et l'antibiogramme en 15 à 20 jours. Ces délais sont majorés de 5 à 10 jours si l'examen microscopique est négatif.

VI. TRAITEMENT :

A. Objectif épidémiologique :

Rompres le cycle de la transmission du BK dont la source principale est la tuberculose pulmonaire à microscopie positive ^[45].

B. Objectif curatif :

Guérir le malade quelque soit la localisation de la tuberculose et éviter les séquelles ^[45].

C. Moyens et durée :

Les cas de tuberculose sont classés en quatre catégories selon les priorités thérapeutiques du programme national de lutte antituberculeuse. Le classement des cas de tuberculose en catégorie permet de standardiser les régimes de chimiothérapie antituberculeuse ^[45].

1. Catégorie I: Nouveaux cas de TPM+ et formes graves:

Cette catégorie constitue la priorité majeure et regroupe ^[45, 119]:

- Les tuberculoses pulmonaires à microscopie positive (TPM+).
- Les formes aiguës et graves: elles mettent en jeu le pronostic vital et/ou fonctionnel, il s'agit de:
 - La tuberculose neuro-méningée.
 - La tuberculose miliaire.
 - La tuberculose multifocale.
 - La pneumonie caséuse.
 - Mal de Pott avec atteinte neurologique.

- La tuberculose pulmonaire à microscopie négative Ou positive de type broncho-pneumonique étendue.
- La tuberculose intestinale.
- La tuberculose rénale.
- Les lésions tuberculeuses extensives, survenant chez les patients vivant avec le VIH.

Le régime thérapeutique pour cette catégorie est le suivant :

✓ Phase initiale :

Association de 4 antibacillaires ; l'Isoniazide (H), la Rifampicine (R), le Pyrazinamide (Z), l'Ethambutol (E) : 6 jours sur 7 pendant 8 semaines. La streptomycine (S) et l'association de trois autres antibacillaires (RHZ) : 6 jours sur 7 pendant 2 mois pour les formes méningées et neuro méningées :

✓ Phase de continuation :

Association de 2 antibacillaires (RH): 6 jours sur 7 pendant 4 mois; sept mois au maximum pour les formes méningées et neuroméningées.

2. Catégorie II: Rechute et échec au traitement et reprise de traitement:

Les malades appartenant à cette catégorie ont un risque élevé de développer une tuberculose multirésistante; ils doivent recevoir un régime de retraitement qui doit être totalement supervisé durant les deux phases ^[45, 119]:

La phase initiale d'une durée de trois mois. Durant cette phase le malade est mis sous l'association SRHZE: 6 jours sur 7 pendant les

deux premiers mois; puis association RHZE: 6 jours sur 7 pendant le troisième mois.

Au terme de cette phase, un contrôle bactériologique des expectorations doit être effectué. Si celui-ci est négatif la phase de continuation du régime thérapeutique doit être entreprise; si, au contraire, il demeure positif l'association RHZE (6 Jours sur 7) doit être maintenue pendant un mois supplémentaire. Si à la fin du quatrième mois le contrôle bactériologique est toujours positif le malade doit être hospitalisé dans l'un des de centres hospitaliers nationaux pour prise en charge.

Une phase de continuation d'une durée de cinq mois. Elle est entamée après la négativation de l'examen bactériologique à la fin de la phase initiale. Pendant la phase de continuation, le malade reçoit l'association RHE 6 jours sur 7 pendant cinq mois. La durée totale du retraitement est donc de huit mois.

3. Catégorie III: TPMo, TPMoC+, PI et TEP:

Cette catégorie regroupe les formes de tuberculose pulmonaire à microscopie négative avec lésions parenchymateuses peu étendues et de tuberculose extra pulmonaire (autres que les formes citées dans la catégorie I) [45, 119].

Le régime de chimiothérapie comprend les phases suivantes:

- Phase initiale: Association RHZ : 6 jours sur 7 pendant deux mois.
- Phase de continuation: Association RH : 6 jours sur 7 pendant quatre mois.

4. Catégorie IV : tuberculose chronique et multirésistante:

Ils doivent être transférés dans l'un des deux centres hospitaliers nationaux en vue de l'identification de la souche bacillaire résistante et d'une prise en charge adéquate. Cette dernière est délicate puisque les patients ont une tuberculose poly résistante dont le traitement est souvent difficile. Les médicaments utilisés sont de seconde intention, très coûteux, généralement plus toxiques et moins efficaces que ceux utilisés dans les régimes thérapeutiques classiques appliqués aux formes pharmacosensibles ^[45, 120].

Cette éventualité est tout à fait exceptionnelle si la standardisation des régimes de base est rigoureusement appliquée.

D. AUTRES REGIMES :

1. Toxicité majeure à l'un des antibacillaires :

En cas de toxicité médicamenteuse majeure, la conduite à tenir est comme suit ^[45, 120]:

- Identification du médicament en cause.
- Prescription d'un autre régime comprenant une association dont l'efficacité est déjà prouvée

2. Selon le terrain :

- ✓ Chez l'enfant :

Le régime recommandé est identique à celui de l'adulte mais il faut éviter la streptomycine en raison de sa toxicité pour la huitième paire crânienne ^[45, 121].

✓ En cas de grossesse :

Le traitement ne doit jamais être interrompu ou reporté à une date ultérieure. Toutefois, la streptomycine est à éviter en raison de son passage à travers le placenta et de son effet toxique pour la huitième paire crânienne chez le fœtus. Les examens radiologiques sont à proscrire sauf en cas d'urgence [45, 121].

✓ La femme allaitante :

Aucun antibacillaire n'est contre indiqué. Mais en cas de TPM+, il est préférable d'éviter l'allaitement maternel, étant donné le risque de contagion pour le nouveau né [45, 121].

✓ Tuberculose du nouveau-né :

Il s'agit d'un nouveau-né ayant un contact étroit avec un sujet tuberculeux contagieux (généralement sa mère). Le nouveau-né qui a des signes cliniques et radiologiques compatibles avec le diagnostic de tuberculose et le nouveau-né qui ne présente aucun symptôme mais dont la mère est atteinte de tuberculose aiguë doivent recevoir une chimiothérapie curative de six mois [45, 121].

3. Les pathologies associées :

➤ Malade avant une insuffisance hépatique :

Etant donné le risque potentiel d'hépatotoxicité que présentent les antituberculeux majeurs, il est important de surveiller étroitement la fonction hépatique des malades qui ont ou qui sont suspects d'avoir une insuffisance hépatique [45, 121].

Le régime thérapeutique reste le même; cependant, il est recommandé de diminuer la posologie de la Rifampicine et de l'Isoniazide.

➤ Malade ayant une insuffisance rénale :

Ces malades peuvent être traités par l'association RHZ aux posologies habituelles- toutefois, la fonction rénale doit être surveillée durant tout le traitement [45, 121].

➤ Malade ayant un diabète :

Aucune modification du régime chimiothérapique ne doit être entreprise. Cependant, le diabète doit être contrôlé par des glycémies à jeun périodiques. Un diabète non ou mal équilibré complique l'évolution d'une tuberculose associée et rend son traitement difficile; et réciproquement, une tuberculose mal traitée pourrait déséquilibrer un diabète préexistant [45].

PARTIE PRATIQUE

I. MATERIEL ET METHODES :

A. Lieu et durée d'étude :

Cette étude aborde sur un mode rétrospectif les cultures des prélèvements colligés entre juillet 2006 et avril 2010 au sein du service de Microbiologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V (HMIMV) à Rabat pour la recherche des mycobactéries.

B. Critères d'inclusion :

Sont inclus tous les prélèvements reçus au service de microbiologie de l'HMIMV provenant de patients fortement suspectés d'être atteints d'une tuberculose par l'examen clinique et par des examens complémentaires (radiologie, examens biochimiques) et qui étaient cultivés par les deux techniques de culture des mycobactéries (la technique classique sur milieu solide [Löwenstein Jonson et Coletsos] et la technique rapide sur milieu liquide [MGIT]).

Le recrutement des patients a été effectué à partir des registres du service de microbiologie contenant les comptes rendus du diagnostic bactériologique avec nom, prénom, âge, sexe, service d'origine, nature du prélèvement, date d'incubation et les dates des résultats des cultures.

C. Critères d'exclusion :

Sont exclus tous les prélèvements qui n'étaient cultivés que par la technique classique de culture des mycobactéries.

D. Patients :

La plupart des patients sont des militaires dont le niveau socioéconomique est moyen avec salaire stable et profitant de la sécurité sociale.

L'âge moyen de ces patients est de 43 ans.

Le sexe ratio est de 1,6.

La majorité des patients ont présenté des signes cliniques évocateurs d'une tuberculose surtout pour les patients ayant une tuberculose pulmonaire.

E. Analyses bactériologiques :

Elles obéissent au guide des bonnes exécutions des analyses aux laboratoires (GBEA) dans une atmosphère sécurisée selon le guide de lutte antituberculeuse de la direction d'épidémiologie ^[45].

1. Mesures de sécurité appliquées dans ce laboratoire :

a. Aménagement :

Le laboratoire où les analyses ont été effectuées :

- Est ensoleillé, bien aéré, suffisamment éclairé et assez spacieux pour qu'on puisse opérer en toute sécurité. Les revêtements (sol, murs et plafond) sont lisses, faciles à nettoyer et résistants aux détergents et aux différents produits utilisés au laboratoire.
- Pourvu d'un lavabo avec de l'eau courante, du savon et d'un désinfectant pour les mains (Bétadine scrub et eau de javel).
- L'autoclave de décontamination des déchets infectieux est situé dans l'enceinte du laboratoire dans un local non encombré et facile à

nettoyer. En dehors de la zone de travail sont situés les locaux pour les prélèvements, pour le secrétariat et les vestiaires.

b. Mesures de sécurité concernant le personnel :

Tous les prélèvements ont été manipulés par un personnel exempt d'infection respiratoire aigue, vacciné par le BCG et suivie par un examen médical incluant une radiophotographie thoracique une fois par an.

c. Manipulation des prélèvements :

Chaque personne travaillant dans le laboratoire de tuberculose est responsable de sa propre sécurité et de celle des autres.

Les moments les plus dangereux de la manipulation des prélèvements sont :

- L'ouverture du crachoir, surtout si le crachat s'est desséché entre le couvercle et la partie latérale du crachoir.
- La préparation d'un frottis.
- L'agitation manuelle ou mécanique des tubes pour homogénéisation des crachats.

Toutes ces manipulations créent des microaérosols (ce sont des résidus de gouttelettes, d'environ 5 μ de diamètre, contenant des bacilles) qui sont projetés jusqu'à plus de 60 cm du point de manipulation, favorisant une contamination par inhalation de ces particules.

Les mesures de sécurité ont consisté :

- En la réduction de la production des aérosols en évitant les manipulations brusques et la production de mousse lors des agitations mécaniques.

- En la rétention et la destruction des aérosols produits en manipulant les prélèvements sous une hotte biologique de sécurité.
- En la conception du lieu de manipulation de manière à ce qu'il soit bien ventilé (10 à 12 changements de volume d'air par heure).

d. Mesures supplémentaires de sécurité :

- Le pipetage à la bouche ainsi que fumer et manger sont strictement interdits. Ne sont utilisées que des micropipettes automatiques et des pipettes pasteur avec poires.
- Le port des blouses, charlottes, sur-chausses, gants et masques de protection lors de la manipulation est obligatoire.

2. Préparation des prélèvements :

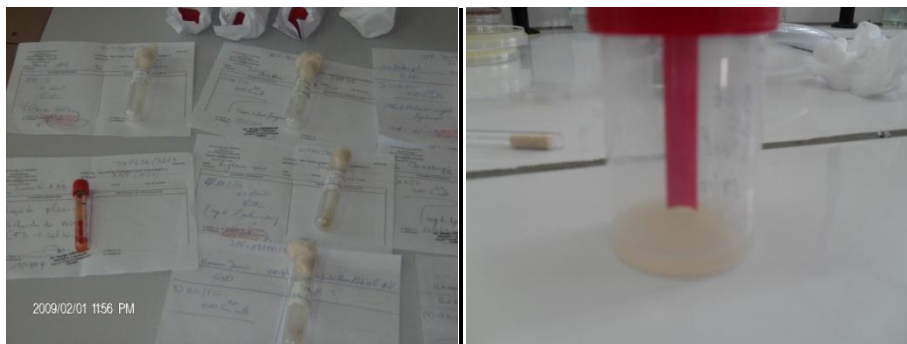


Figure 3 : PRELEVEMENTS, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

a. Prélèvements d'origine pulmonaire :

Les crachats, les tubages gastriques et quelques fois les aspirations bronchiques (tous les mercredis) ou les lavages bronchoalvéolaire sont les plus fréquemment reçus dans des flacons stériles à large ouverture, à fermeture hermétique et bien étiquetés.

Tous les prélèvements d'aspect salivaire sont refaits.

b. Prélèvements d'origine extrapulmonaire :

Les liquides de ponction comme le liquide pleural, le liquide d'ascite, les liquides articulaires, la moelle osseuse..., sont prélevés sur anticoagulant en utilisant de l'héparine, et non de l'éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) qui inhibe la croissance des mycobactéries.

La présence de mycobactéries dans le sang est constante mais faible. Deux à trois prélèvements successifs sont pratiqués, et les prélèvements seront répétés, en cas de négativité de la culture, trois semaines après.

Le prélèvement d'urines pour la recherche de mycobactéries porte sur la totalité des urines émises au lever, après restriction hydrique sur la nuit, et sont recueillies stérilement. Cette recherche est effectuée chez les sujets immunodéprimés en cas d'autres prélèvements négatifs chez ces patients et devant une forte suspicion de tuberculose. Trois prélèvements successifs à 3 jours d'intervalle sont réalisés.

Les prélèvements des selles sont rarement reçus, du fait de l'importance de la contamination par la flore fécale. Un gramme de selles est suffisant dans un pot stérile pouvant être conservé au froid (+4 C°), sur lequel un examen direct par la technique de Ziehl-Neelsen est essentiellement réalisé.

En plus des prélèvements extrapulmonaires précédemment cités l'unité de bactériologie reçoit des prélèvements tissulaires (ganglions, foie, poumon, peau, os,...) qui sont réalisés stérilement afin d'éviter une étape de décontamination sur des échantillons généralement pauvres en mycobactéries, ces prélèvements sont acheminés rapidement pour éviter la dessiccation des prélèvements de faible volume.

Les abcès, les lésions cutanées ou plaies et les liquides d'aspiration sont réalisés après désinfection de la peau à l'alcool. Le liquide récupéré après ponction est recueilli dans un tube sec stérile. En revanche, pour les lésions cutanées, une biopsie à la périphérie de la lésion est réalisée.



Figure 4 : ECRASEMENT D'UNE BIOPSIE, service de microbiologie, HMIMV, RABAT 2010

3. Traitement des prélèvements :

L'analyse bactériologique des différents prélèvements est effectuée par deux techniques de culture : une rapide (en milieu liquide) et une classique (en milieu solide), cette dernière est considérée comme le gold standard ou méthode de référence (**annexe**).

Recherche des mycobactéries:



Figure 5 : IDENTIFICATION DES PRELEVEMENTS, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

Les prélèvements et les bons d'examens arrivés au laboratoire sont numérotés (le prélèvement et le bon correspondant comportent tous les deux le même numéro) puis inscrits dans le registre.

La recherche des mycobactéries au sein du service est basée essentiellement sur l'examen direct et surtout la culture.

a. Examen direct au microscope :



Figure 6 : REALISATION DES FROTTIS, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

- ✓ Réalisation des frottis: elle est faite à partir d'une parcelle du produit pathologique, ou sur le culot de centrifugation à l'ose sur l'extrémité d'une lame, sur une surface de: 20/10mm, puis fixation à la chaleur.

- ✓ Colorations:

COLORATION A L'AURAMINE:

Principe : elle est basée sur l'sage d'un fluorochrome qui est l'auramine, ce dernier est gardé par les mycobactéries après traitement à l'acide alcool. Le rouge thiazine est le colorant de contraste.

Cette coloration permet la mise en évidence d'un plus grand nombre de BAAR et une exploration plus rapide du frottis (3 minutes à faible grossissement : 400).

C'est un test de présomption. Les lames doivent être contrôlées par le Ziehl-Neelsen.

Technique de coloration :



Figure 7 : COLORATION A L'AURAMINE, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

On couvre les frottis fixés à la chaleur par la solution d'auramine pendant 15 à 20 mn. Après lavage à l'eau on décolore par l'alcool-acide pendant 5 à 10 mn, on relave à l'eau puis on les recouvre de la solution de rouge thiazine pendant 1min30sec, on effectue un dernier lavage à l'eau avant de sécher les lames pendant une à deux minutes.

Résultats :

On effectue la lecture au microscope à fluorescence (objectif 40 sans immersion) dans une pièce sombre : les BAAR apparaissent colorés en jaune-vert fluorescent sur fond rouge. En cas de positivité, on utilise cette lame pour confirmer par la coloration de Ziehl-Neelsen.

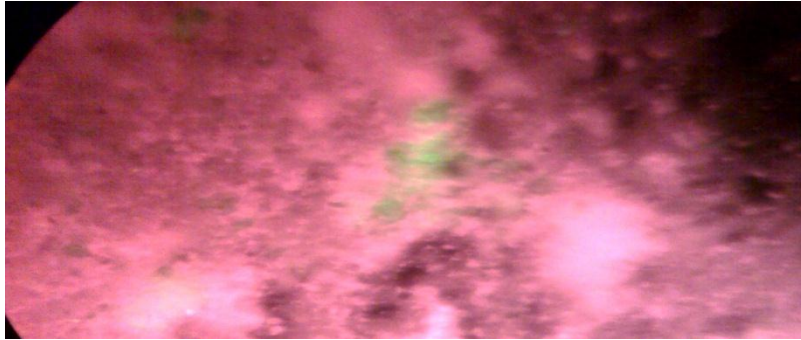


Figure 8 : AURAMINE A PARTIR D'UNE COLONIE DE *M. tuberculosis*, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010

COLORATION DE ZIEHL-NEELSEN :

Principe : les mycobactéries gardent leur coloration par la fuschine malgré l'action de l'acide-alcool. Le Bleu de Méthylène Phéniqué sert de colorant de contraste.

Technique de coloration :



Figure 9 : COLORATION AU ZIEHL-NEELSEN, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

On utilise des frottis fixés à la chaleur et non pas à l'alcool, on utilise aussi les lames colorées à l'auramine et suspectées positives au microscope à fluorescence.

On recouvre les frottis par la Fuschine de Ziehl filtrée extemporanément sur papier filtre et on chauffe les lames

doucement jusqu'à l'émission de vapeur en évitant l'ébullition et le dessèchement du colorant (coton flambé passé régulièrement sous la lame) trois fois à 10min d'intervalle. On lave immédiatement à l'eau et on décolore à l'alcool-acide pendant 3 mn on lave a nouveau à l'eau courante avant de couvrir le frottis de Bleu de Méthylène Phéniqué pendant 30 sec ; enfin on lave à l'eau courante une dernière fois avant les sécher.

Résultats :

Les BAAR apparaissent rouges sur fond bleu. On Effectue une numération par champs (Objectif 100 à immersion) :

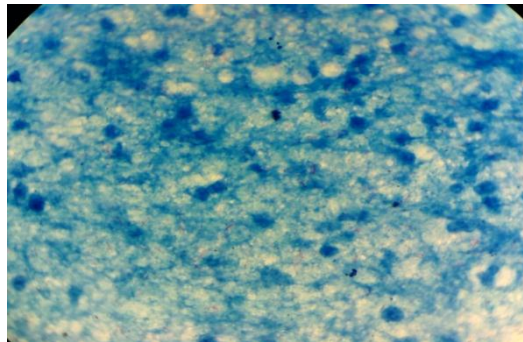


Figure 10 : ZIEHL NEELSEN A PARTIR DU PUS D'UNE ULCERATION CUTANEE, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010

Les résultats de l'examen direct sont quantifiés de la façon suivante : (Codification OMS/UICTMR*) (Tableau 5)

Tableau 5: *UICTMR : union internationale contre la tuberculose et les maladies respiratoires

Négatif	<1bacille /100 champs
+examen suspect à confirmer	1 – 9 bacilles / 100 champs
++	10 – 99 bacilles / 100 champs
+++	1 – 9 bacilles / champ
++++	10-99 bacilles /champ
+++++	>100bacilles / champ

L'examen direct est peu sensible (il faut 5000 à 10000 BAAR/ml de prélèvement pour que la probabilité de voir au moins un BAAR sur un frottis soit de 95 %).

Il y a normalement une bonne corrélation des résultats des examens directs et des cultures, mais il arrive d'avoir des cultures négatives pour des prélèvements déclarés positif à l'examen direct (malade sous traitement, erreur de lecture, culture de mauvaise qualité).

b. Cultures des mycobactéries :

- ✓ Décontamination des échantillons :



Figure 11 : DECONTAMINATION, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

Il existe deux méthodes de décontamination : une au lauryl sulfate de sodium (technique classique pour la culture en milieu solides) et une autre au N-acétyl-cystéine sodique (technique de culture en milieu liquide Mycobacteria Growth Indicator tube: MGIT).

Pour notre étude, tous les prélèvements ont été décontaminés par le N-acétyl-cystéine sodique que ça soit pour la technique classique ou pour la technique rapide.

✓ Neutralisation et centrifugation :

Neutralisation :



Figure 12 : NEUTRALISATION, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

Les produits déjà décontaminés sont alcalins, la neutralisation se fait par une solution tampon phosphate contenant le pourpre de bromocrésol jusqu'au virage au jaune tout en respectant les conditions d'asepsie.

Centrifugation :

Après neutralisation des produits, on les centrifuge, pendant 15 minutes à 3000 tours/min et les culots de centrifugation servent à l'ensemencement à raison de 0,2 ml par tubes.



Figures 13 : CENTRIFUGATION, service de MICROBIOLOGIE, HMIMV RABAT 2010

✓ Inoculation des milieux de cultures :



Figures 14 : INOCULATION DES MILIEUX, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

0,2 ml du culot de chacun des produits centrifugés sert à l'Inoculation de chacun des milieux de Cultures.

Technique classique :

Les milieux sont solides et à base d'œuf:

Le Lowenstein-Jensen (LJ) renferme des vitamines, l'amidon de pomme de terre, des sels minéraux, du glycérol et du vert malachite (inhibiteur de croissance des contaminants).

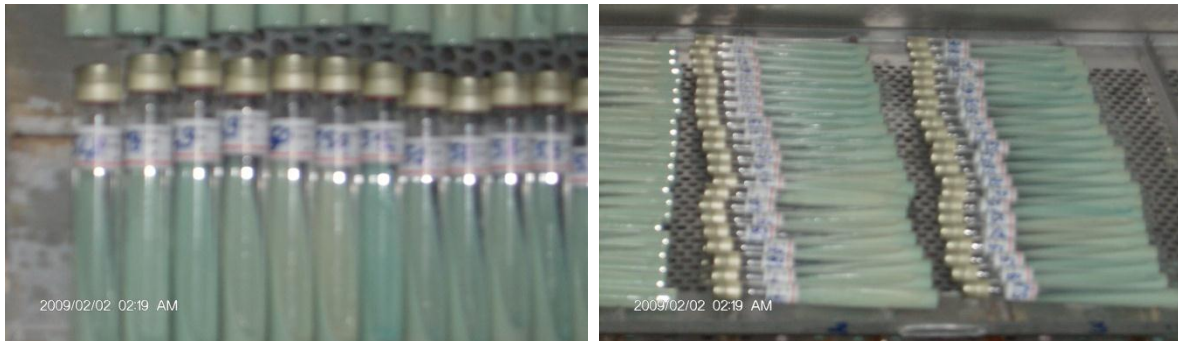
Le Coletsos (CL) contient davantage d'œuf, du pyruvate de sodium, de la cendre d'antracite et une solution d'oligo-éléments pour *M bovis*, *M africanum* et certaines Mycobactéries atypiques.

Technique Mycobactérie Growth Indicator Tube (MGIT) :

Milieu liquide « MGIT »: le fond du tube est garni d'un support de silicone imprégné d'un sel de ruthénium. Le milieu est additionné extemporanément de: supplément de croissance OADC (acide oléique, albumine, dextrose et catalase) et de mélange d'antibiotiques PANTA (Polymixine B, Amphotéricine, Acide nalidixique, Triméthoprime et Carboxy-pénicilline).

✓ Incubation des cultures :

Technique classique :



Figures 15 : INCUBATION DES CULTURE SUR MILIEUX SOLIDE A L'ETUVE, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

On place les tubes à l'étuve à 37°C, en position incliné, mi-fermés, on ne les ferme qu'après évaporation du liquide. L'incubation peut aller jusqu'à 12 semaines.

Technique MGIT :



Figure 16 : INCUBATION DES MILIEUX DANS LE MGIT Bactec 960, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

On place les tubes, bien fermés, dans l'automate à 37°C, le délai d'incubation est de 42 jours au maximum.

✓ Lecture des cultures :



Figures 17 : DEBLEAGE, service de Microbiologie, HMIMV RABAT 2010

Milieux solides :

Elle se fait à l'œil nu. Et tant que la croissance des mycobactéries est lente, on fait la lecture une fois par semaine.

Les colonies sur ces milieux sont sèches, de couleur crème beige, à surface rugueuse, en chou fleur et elles n'apparaissent qu'en 21^{ème} jours en moyenne.

Milieus MGIT :

Elle est automatisée, elle se fait par détection de fluorescence émise par le sel de ruthénium quand la pression partielle d'oxygène diminue dans le milieu (diminution due au métabolisme microbien) . Les tubes sont contrôlés toutes les 60 minutes et le délai de culture est rapide : 8 à 30 jours selon la richesse des BAAR.



Figure 18 : CULTURE POSITIVE SUR UN MILIEU SOLIDE, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010

On contrôle toutes les cultures suspectées positives par coloration au Ziehl.



Figure 19 : ZIEHL NEELSEN A PARTIR D'UNE COLONIE *M. tuberculosis*, provenant d'un tubage gastrique, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010

F. Analyse des données :

La saisie des données brutes est faite sur Excel en prenant en considération toutes les variables à exploiter (renseignements cliniques, examen direct, culture classique, culture en milieu liquide, date d'incubation et la date des résultats).

L'exploitation des ces données a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package For Social Science) version 18.0.

Les variables qualitatives ont été exprimées en pourcentage et /ou en effectif, et font l'objet du test Khi deux. Les variables quantitatives ont été exprimées en moyenne.

G. Les indices informationnels étudiés :

Pour les cultures en milieu liquide, on a évalué la performance par rapport à la culture en milieu solide par le calcul de : la vitesse de pousse (VP), la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive (VPP), la valeur prédictive négative (VPN), et par le tracé de la courbe de ROC (**annexe**).

II. RESULTATS :

Sur la période allant de juillet 2006 à avril 2010, 4448 prélèvements ont bénéficié au même temps de la culture sur milieu solide et la culture sur milieu liquide.

En fonction du site de prélèvement, on peut distinguer 2712 prélèvements pulmonaires, soit 61% des prélèvements, et 1736 prélèvements extrapulmonaires, soit 39% du total (fig 20).

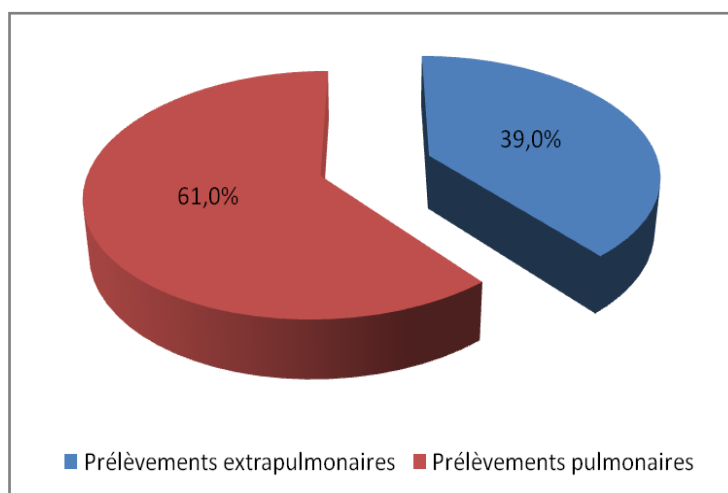


Figure 20 : Répartition des prélèvements selon le site de prélèvement, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

A. Examen direct :

Les résultats de l'examen direct montrent que 208 prélèvements sont positifs, soit 4,7%, et que le reste est négatif, soit 95.3% (fig 21).

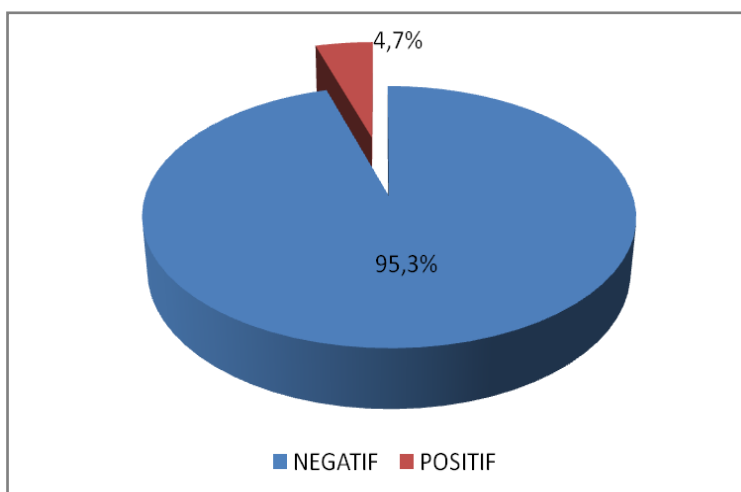


figure 21 : Résultats de l'examen direct, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

Pour les prélèvements pulmonaires, 180, soit 6,6% ont été révélés positifs à l'examen direct. Les 2532 restants ont été négatifs, soit 93,4% (fig 22).

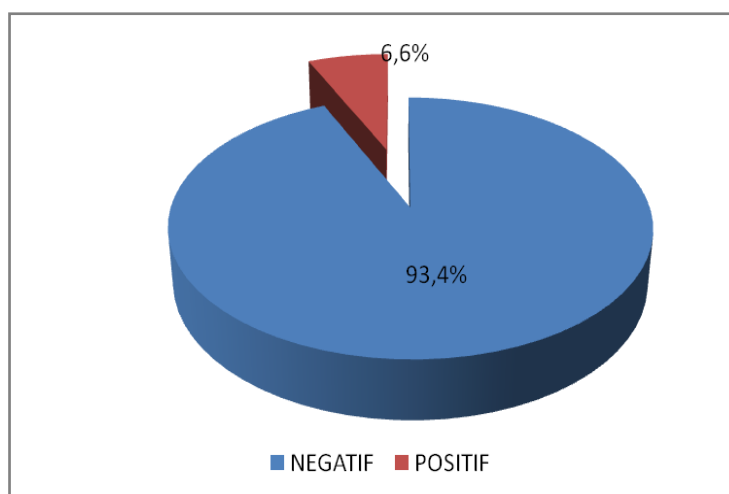


Figure 22 : Résultats de l'examen direct pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

Seules, 28 prélèvements, soit 1,6% on été positifs à l'examen direct. Les 98,4% (1708) restants ont été négatifs (fig 23).

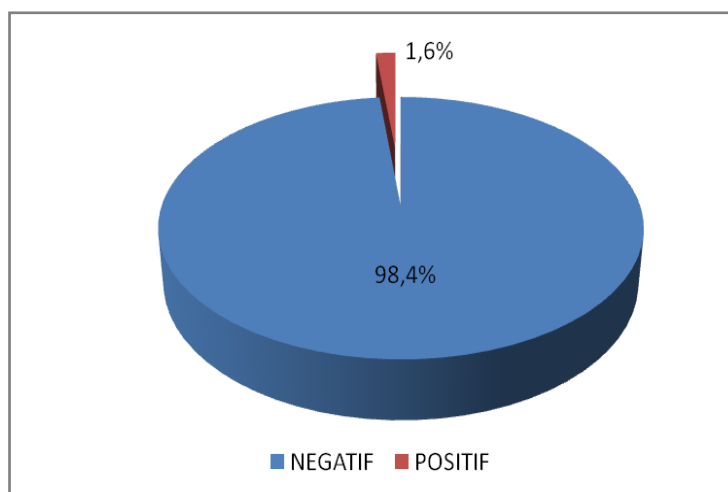


Figure 23 : Résultats de l'examen direct pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

B. Culture sur milieu liquide :

La culture sur milieu liquide est positive pour 377 prélèvements, soit 8,5%, négative pour 3608 prélèvements, soit 81,1% et contaminée pour le reste (fig 24).

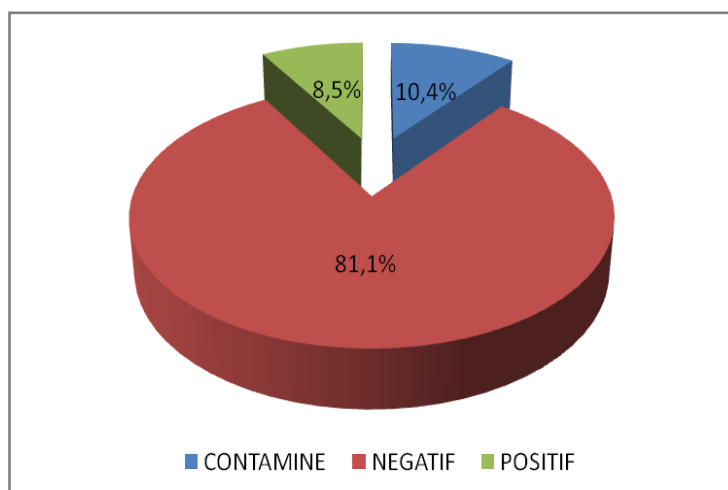


Figure 24 : Résultats de la culture sur milieu liquide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

Pour les prélèvements pulmonaires, 317 (11,7%) cultures étaient positives, 323 (11,9%) étaient contaminées et sur les 2395 (76,4%) restantes, le MGIT n'a détecté aucune pousse (fig 25).

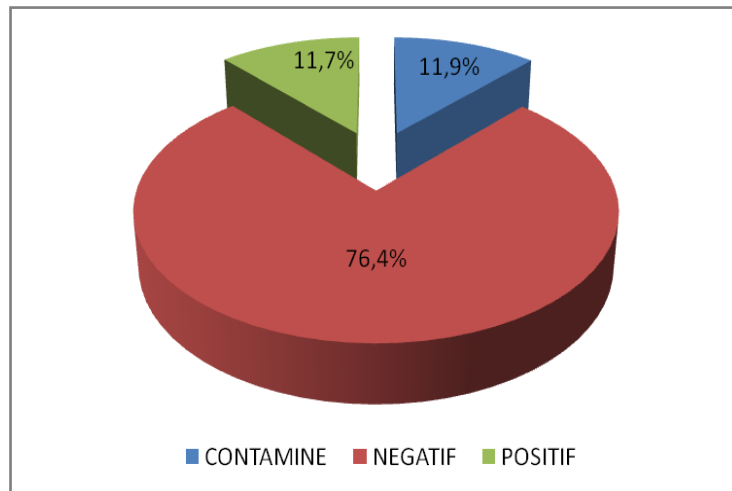


Figure 25 : Résultats de la culture rapide pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

La culture des prélèvements extrapulmonaires a révélée 200 pousses : 60 (3,5%) cultures positives et 140 (8,1%) cultures contaminées. 1536 (88,5%) cultures n'ont pas poussé (fig 26).

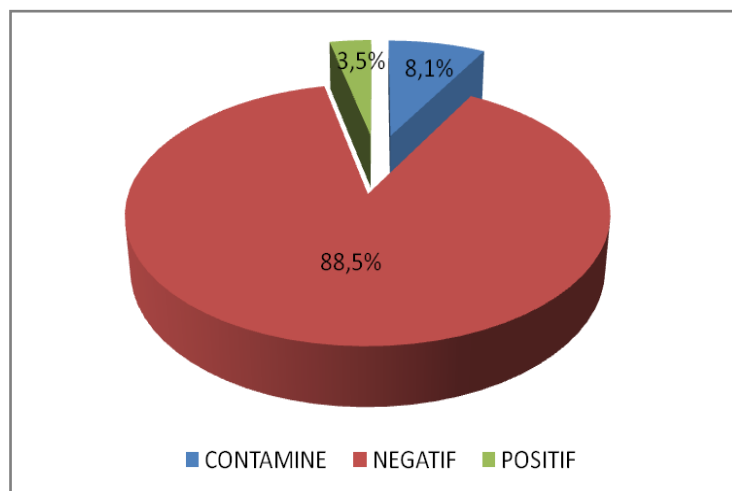


Figure 26 : Résultats de la culture rapide pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

C. Culture sur milieu solide :

397 cultures positives, soit 8,9%, 3719 cultures négatives, soit 83,6% et 332 cultures contaminées, soit 7,5% sont les résultats de la culture des prélèvements sur milieu solide (fig 27).

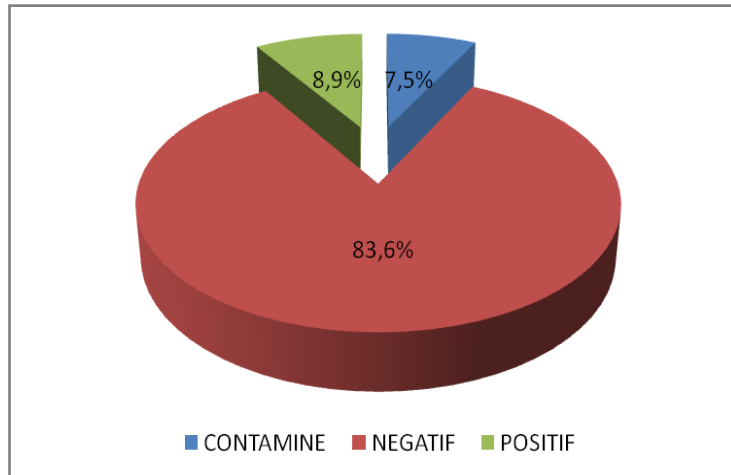


Figure 27 : Résultats de la culture sur milieu solide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

Pour les prélèvements pulmonaires, le Gold standard a mis au point 307 (11,3%) atteintes par la tuberculose pulmonaire, 221 (8,1%) cultures contaminées et 2184 (80,5%) cultures négatives (fig 28).

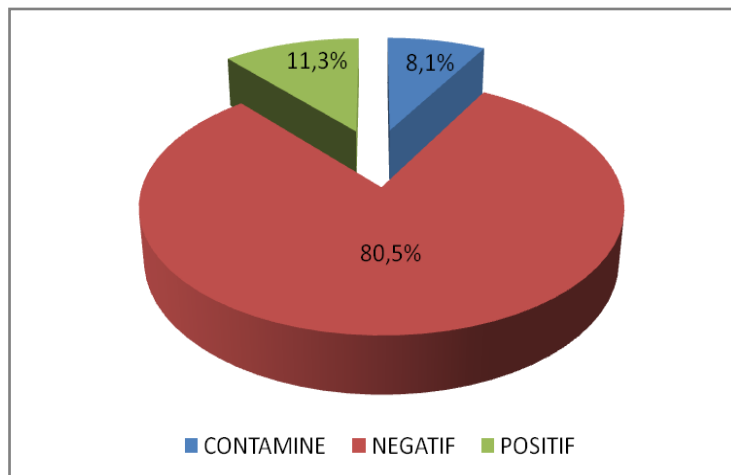


Figure 28 : Résultats de la culture classique pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

Et parmi les prélèvements extrapulmonaires, la culture sur milieu solide a révélé 90 (5,2%) atteintes par la tuberculose extrapulmonaire, 111 (6,4%) cultures contaminées et 1535 (88,4%) n'ont pas poussé (fig 29).

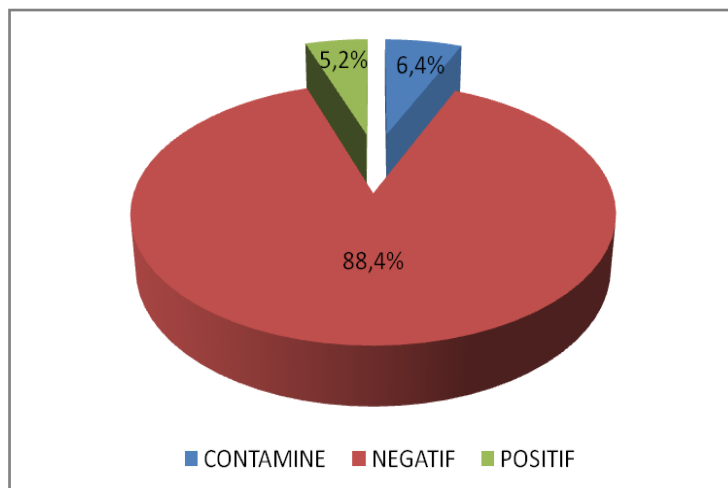


Figure 29 : Résultats de la culture classique pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

D. Vitesse de pousse :

En faisant la différence entre la date de révélation des résultats positifs et la date de mise en culture des prélèvements et en calculant la moyenne de ces différences, on constate que la vitesse de pousse des mycobactéries sur milieu liquide est de 11,1 jours et de 29,3 jours pour les milieux solides (fig 30).

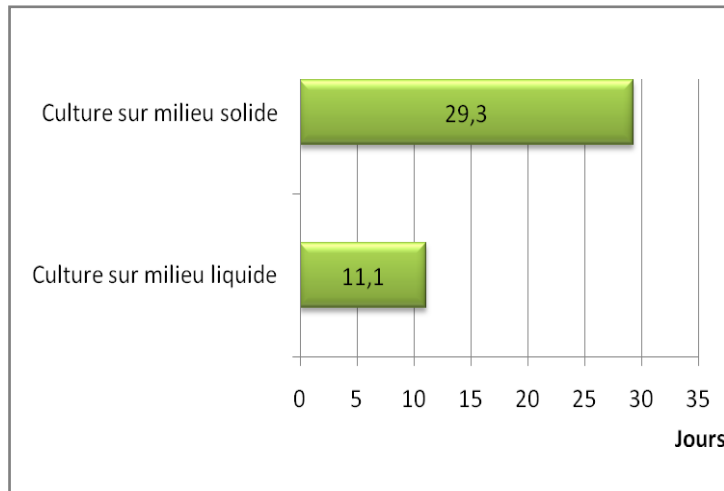


Figure 30 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

Pour les prélèvements pulmonaires, la vitesse moyenne de pousse a été 27,3 jours pour les cultures sur milieu solide et de 10,6 jours pour les cultures sur milieu liquide (fig 31).

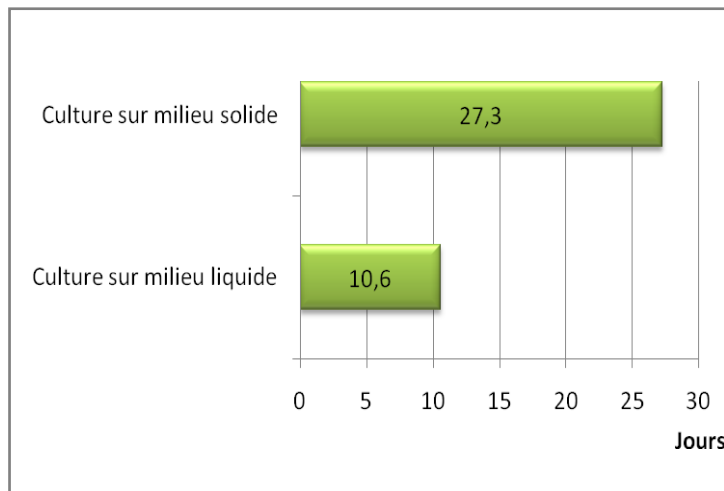


Figure 31 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

La vitesse moyenne de pousse des cultures prélèvements extrapulmonaires a été de 15,5 jours pour le milieu liquide et 36,1 jours pour les milieux solides (fig 32).

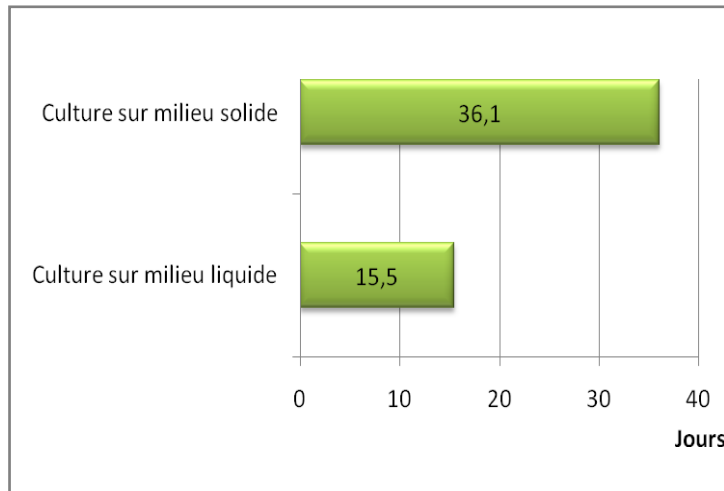


Figure 32 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

Impact du résultat de l'examen direct sur la vitesse de pousse :

La vitesse de pousse des cultures dont les prélèvements sont révélés positifs à l'examen direct (fig 33) :

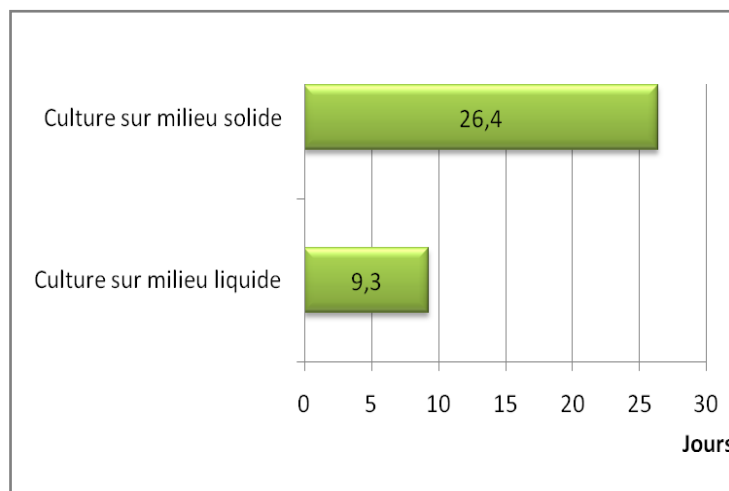


Figure 33 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide pour les prélèvements positifs à l'examen direct, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

La vitesse de pousse des cultures dont les prélèvements sont révélés négatifs à l'examen direct (fig 34) :

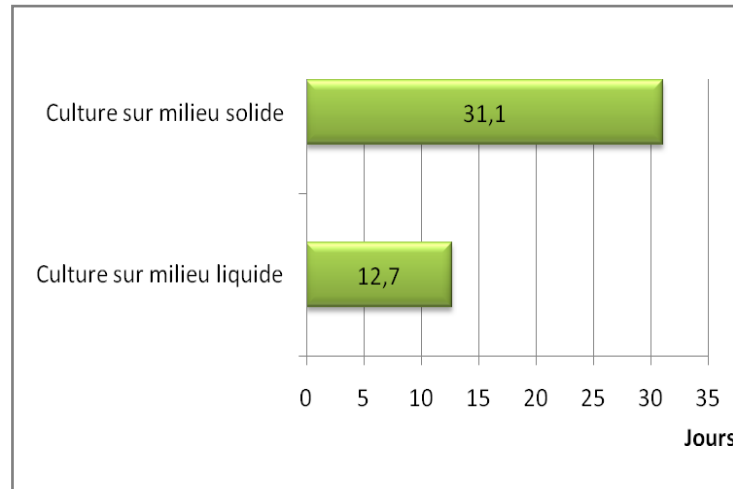


Figure 34 : Vitesse de pousse des mycobactéries sur milieux liquide et solide pour les prélèvements négatifs à l'examen direct, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

E. Indices informationnels : (annexe)

En calculant la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative de l'examen direct et de la culture rapide, les résultats suivants sont obtenus (fig 35) :

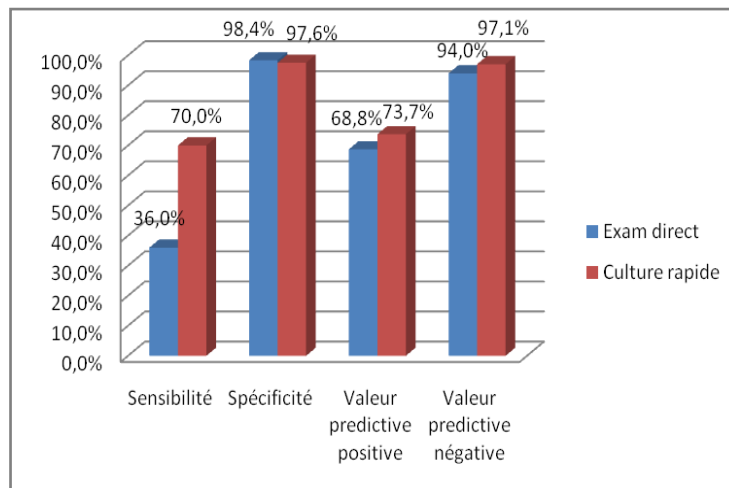


Figure 35 : Indices informationnels de l'examen direct et de la culture rapide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

Parmi les tuberculeux, seuls 36% ont un examen direct positif et 98,4% des sains ont un examen direct négatif : l'examen direct est spécifique mais il manque de sensibilité, à l'inverse de la culture rapide qui a une sensibilité de 70% (fig 35).

Et 68,8% parmi les examens directs positifs sont des tuberculeux et 94% des négatifs sont des sains. Pour la culture rapide, 73,7% des cultures positives sont révélés des tuberculeux et 97,1% des cultures négatives sont des sains (fig 35).

Les indices informationnels selon le type de prélèvement :

➤ Prélèvements pulmonaires (fig 36) :

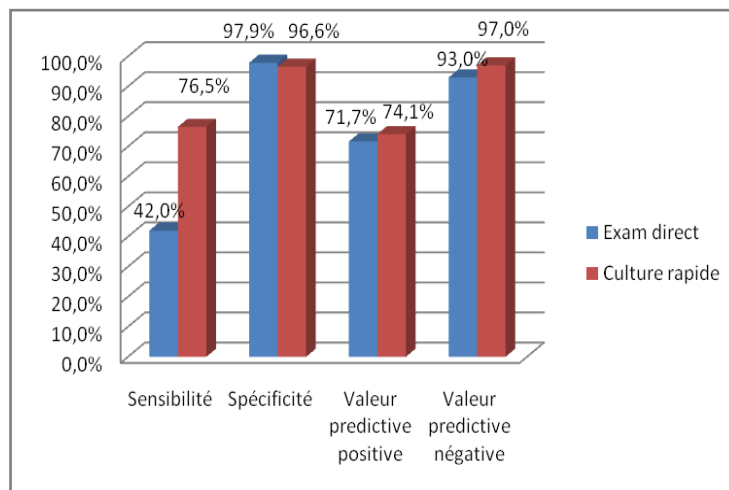


Figure 36 : Indices informationnels de l'examen direct et de la culture rapide pour les prélèvements pulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

➤ Prélèvements extrapulmonaires (fig 37):

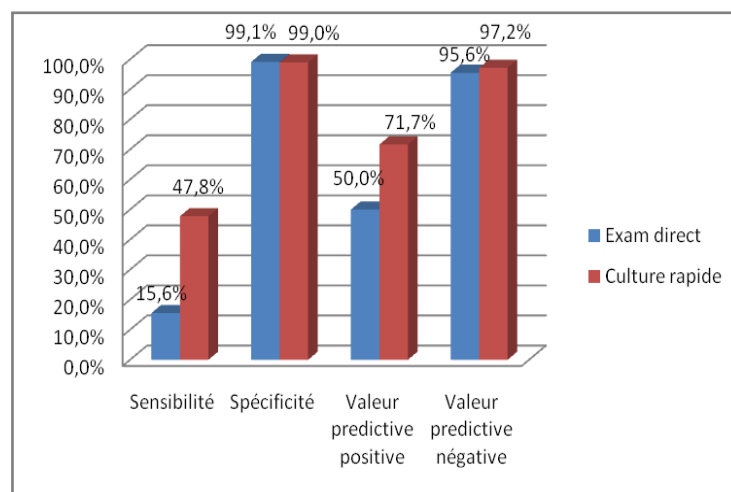


Figure 37 : Indices informationnels de l'examen direct et de la culture rapide pour les prélèvements extrapulmonaires, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010.

F. Comparaison des deux types de culture :

1. Vitesse de croissance des mycobactéries :

Tableau 6 : comparaison des vitesses moyennes de pousse des cultures des mycobactéries sur milieu liquide et sur milieu solide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010:

Vitesse de pousse	Culture sur milieu liquide	Culture sur milieu solide	P
Vitesse moyenne de pousse (générale)	11,1	29,3	<0,001
Vitesse moyenne de pousse des cultures à prélèvements pulmonaires	10,6	27,3	<0,001
Vitesse moyenne de pousse des cultures à prélèvements extrapulmonaires	15,5	36,1	<0,001
Vitesse moyenne de pousse des cultures à microscopie positive	9,3	26,4	<0,001

Vitesse moyenne de pousse des cultures à microscopie négative	12,7	31,1	<0,001
---	------	------	--------

Le délai de croissance sur milieu liquide est toujours plus court que celui sur milieu solide et la différence constatée entre les deux vitesses de croissance est statistiquement significative ($P < 0,001$).

La vitesse de pousse est influencée par :

- Le type de prélèvement : elle plus précoce pour les prélèvements pulmonaires que pour les extrapulmonaires.
- Le résultat de l'examen direct : lorsqu'il est positif la culture pousse plus rapidement que lorsqu'il est négatif.

2. Résultats des cultures :

Tableau 7 : comparaison des résultats des cultures des mycobactéries sur milieu liquide et sur milieu solide, service de microbiologie, HMIMV RABAT 2010:

	Culture sur milieu liquide	Culture sur milieu solide	P
Cultures positives	377	397	0,176
Cultures négatives	3608	3719	<0,001
Cultures contaminées	463	332	<0,001
Cultures positives à prélèvements pulmonaires	317	307	0,420
Cultures négatives à prélèvements pulmonaires	2072	2184	<0,001
Cultures contaminées à prélèvements pulmonaires	323	221	<0,001
Cultures positives à prélèvements extrapulmonaires	60	90	<0,001
Cultures négatives à prélèvements extrapulmonaires	1536	1535	0,949
Cultures contaminées à prélèvements extrapulmonaires	140	111	0,035
Cultures positives à microscopie positive	160	143	0,027

Cultures positives à microscopie négative	217	254	0,003
--	-----	-----	-------

La différence entre les cultures positives sur milieu liquide (377 soit 8,5%) et ceux sur milieu solide (397 soit 8,9%) n'est pas statistiquement significative ($P=0,176$), cela veut dire qu'on a le choix d'ensemencer soit le milieu solide, soit le milieu liquide. Mais cela n'est valable que pour les cultures positives à prélèvements pulmonaires ($P=0,420$), alors que pour les prélèvements extrapulmonaires, la différence constatée est statistiquement significative ($P<0,001$), par conséquent, l'ensemencement des deux milieux de culture est nécessaire.

Les courbes de ROC ci-après confirment les résultats cités auparavant.

Ainsi, pour les prélèvements pulmonaires, les deux courbes représentant les cultures positives sur milieu solide et sur milieu liquide se chevauchent (fig 38).

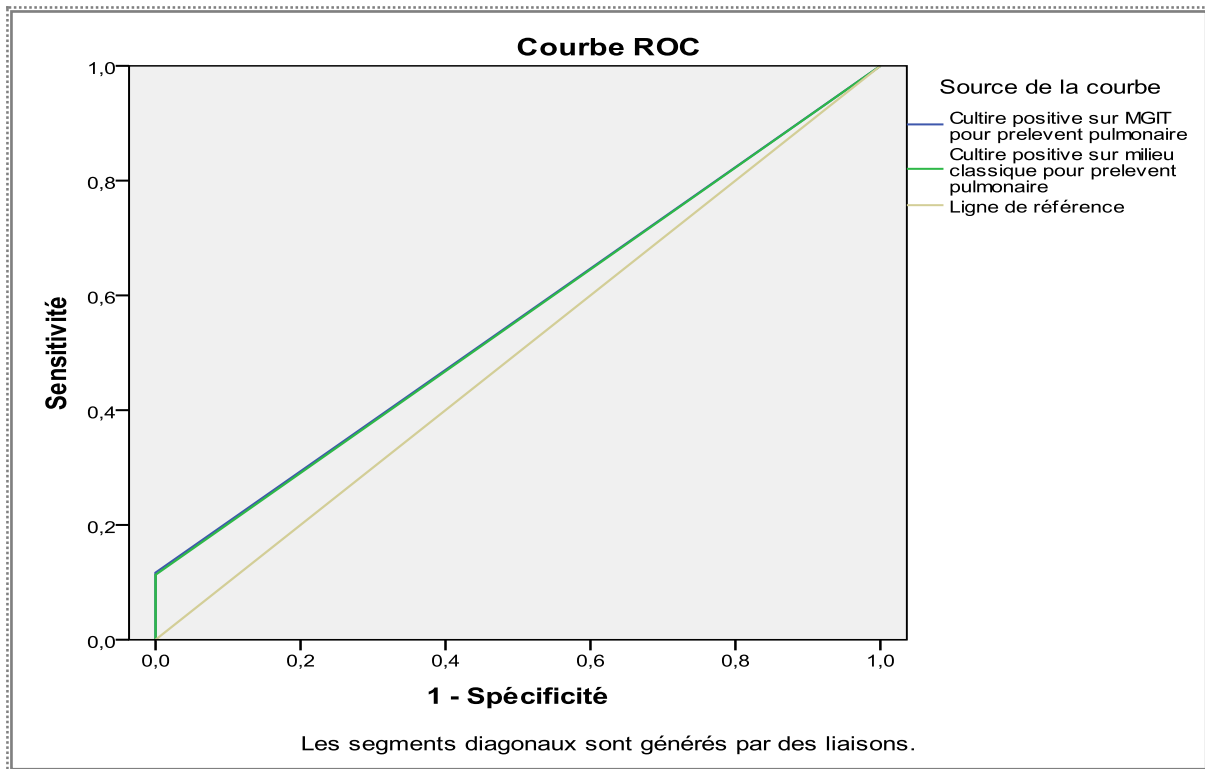


Figure 38 : Courbe de ROC comparant le diagnostic de la tuberculose pulmonaire par la technique rapide et la technique classique.

Pour les prélèvements extrapulmonaires, les deux courbes ne chevauchent pas, mais sont très rapprochées, ce qui veut dire que la différence entre les deux techniques est minimale et les deux techniques sont complémentaires (fig 39).

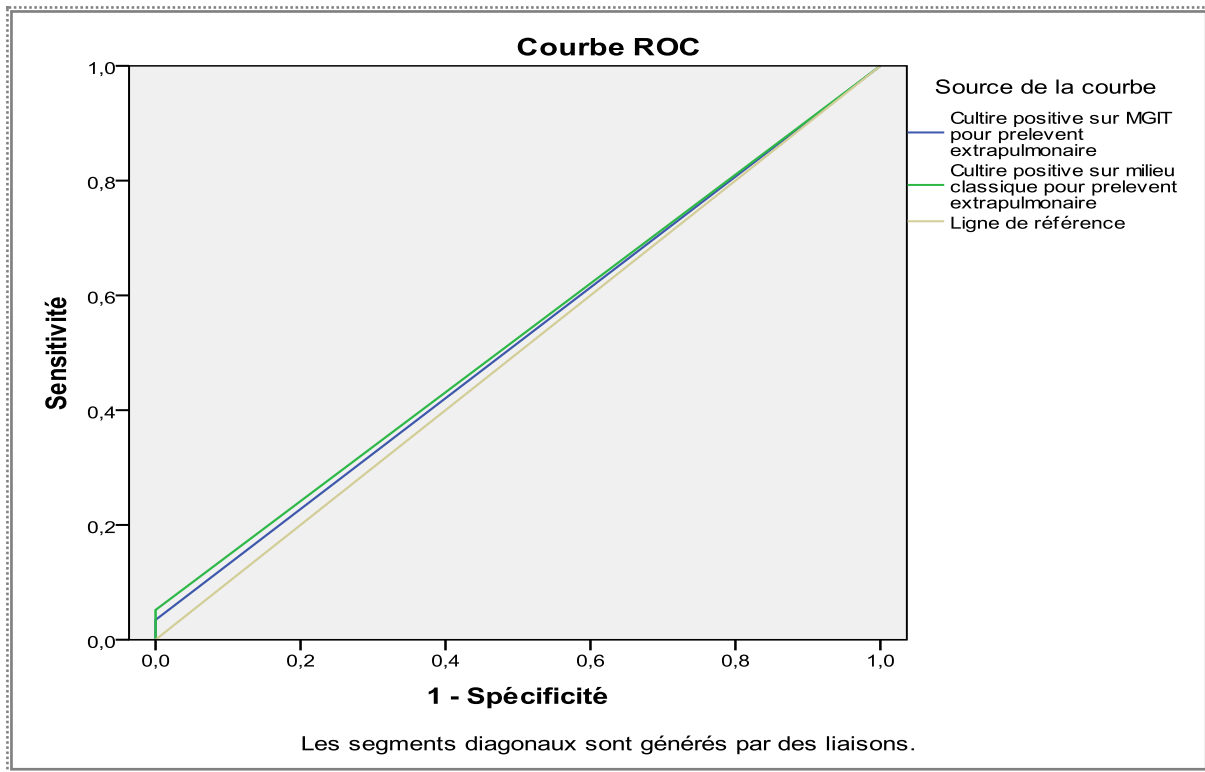


Figure 39 : Courbe de ROC comparant le diagnostic de la tuberculose extrapulmonaire par la technique rapide et la technique classique.

III. DISCUSSION :

Grand fléau de l'histoire de l'humanité. La tuberculose fait à elle seule aujourd'hui, plus de victimes que le paludisme et le sida réunis [5, 122]. Malheureusement, la lenteur de croissance des mycobactéries a longtemps entravé les études concernant cette maladie et son développement. Le diagnostic de la tuberculose repose principalement sur l'isolement en culture et l'identification du germe responsable.

L'analyse des résultats de l'examen direct a montré qu'il y a des discordances avec le Gold standard, 65 faux positifs et 254 faux négatifs. En effet, l'examen direct permet seulement de conclure sur la présence des BAAR dans les prélèvements, d'où la nécessité de la mise en culture, ce qui va confirmer la présence des mycobactéries viables responsables de la maladie.

Ces discordances entre examen microscopique positif et cultures négatives sont dues, d'une part, au fait qu'il peut arriver que les BAAR vus à l'examen direct ne puissent être cultivés, ces BAAR sont visibles, mais non viables et s'observent chez les malades traités par les antibacillaires, ces résultats sont retrouvés dans certaines études [123, 124, 125] qui ont montré que jusqu'à 90% des résultats de l'examen direct peuvent être faussement positifs. D'autre part, des problèmes de délais d'acheminement ou de traitement de l'échantillon au laboratoire affectant la survie des mycobactéries, ce qui, si cela est le cas, oblige à maintenir le prélèvement à + 4°C et d'autres problèmes lors de la manipulation de l'échantillon: tel une décontamination trop forte, mais aussi l'utilisation de réactifs chlorés non stériles ou reconstitués avec l'eau du robinet [125].

Pour les résultats négatifs en examen direct et qui sont positifs en cultures, ils sont dus au fait qu'il faut 10^4 bacilles/ml de produit pathologique pour que l'examen direct soit positif [126].

La même analyse; effectuée sur les prélèvements pulmonaires et extrapulmonaires séparément; montre que ces discordances sont plus important lorsqu'il s'agit des prélèvements extrapulmonaires.

L'examen direct est peu coûteux, spécifique (98% pour la TB pulmonaire et 99% pour la TB extrapulmonaire), mais il manque de sensibilité (42% pour la TB pulmonaire et 16% pour la TB extrapulmonaire) et par conséquent, il ne peut pas être destiné au dépistage.

La comparaison des résultats positifs des deux types de cultures montre une coïncidence totale pour les prélèvements pulmonaires, à l'inverse des extrapulmonaires. Ceci peut être expliqué par :

- Les prélèvements pulmonaires sont plus riches en bacilles tuberculeux que les extrapulmonaires, ceci est expliqué par le fait que l'examen direct est plus sensible lorsqu'il s'agit des prélèvements pulmonaires sachant que sa sensibilité dépend essentiellement de la concentration des BAAR.
- La sensibilité de la culture sur milieu liquide dépend de la concentration en bacilles dans le prélèvement, et les résultats prouvent que le taux de positivité de la culture sur milieu liquide augmente lorsque l'examen direct est positif.

Dans cette étude, la sensibilité de la culture en milieu liquide par rapport au milieu solide est de 70% (en fait, 76,5% pour la tuberculose pulmonaire et 47,8% pour la tuberculose extrapulmonaire), ces résultats concordent avec ceux des autres études où cette culture a une sensibilité de 50 à 95 % [127, 128], mais pas pour les prélèvements extra pulmonaires, cela est du au fait que ces auteurs ontensemencé deux tubes du milieu liquide au lieu de un, ce qui augmente la sensibilité de la technique même jusqu'à 100% [129].

Le taux de contamination sur milieu liquide est supérieur à celui rapporté sur milieux solide, ce constat a également été approuvé par plusieurs études [130, 131, 132]. Ceci est expliqué par la richesse du milieu liquide qui est considérée comme un facteur favorisant la contamination. En général, malgré un respect strict des bonnes pratiques au laboratoire, il existe un risque incompressible de contamination estimé entre 0,5 et 5% [132]. Il est important de signaler aussi que la décontamination des prélèvements est une étape très importante pour la fiabilité des résultats [149], la décontamination au N-acétyl-cystéine sodique a comme avantages une adaptation avec tous les milieux de culture en particulier les milieux liquides, elle est adaptée aux techniques de biologie moléculaire, mais l'inconvénient c'est qu'elle n'est pas satisfaisante pour la culture faite à base d'œuf (milieu solide) ce qui provoque une moins bonne homogénéisation.

La croissance des cultures sur milieu liquide est beaucoup plus rapide que sur milieux solides, en effet, de nombreuses études; tel que celles de Hanna et al, Tortoli et al, Alcaide et al, Idigoras et al, Williams. B et al, ont trouvé des résultats semblables [133, 134, 135, 136, 137].

Le délai de croissance se raccourcis lorsque les prélèvements sont riche en mycobactéries, en effet, les cultures à prélèvements pulmonaires et les cultures à microscopies positives poussent plus rapidement que les cultures à prélèvements extrapulmonaires et les et les cultures à microscopie négative, ce qui a été prouvé par certaines études. [138, 139].

La lecture des cultures sur milieux solides se fait à l'œil nu ce qui permet l'observation, le dénombrement des colonies et la détection de cultures mixtes de mycobactéries. A l'inverse, sur milieu liquide la lecture est automatisée, ne permettant ni l'observation, ni le

dénombrement des colonies et ne permettant pas la détection de cultures mixtes de mycobactéries.

Les milieux de Löwenstein-Jensen (LJ) et Coletsos (CL), contenant des sels minéraux, de l'asparagine, de la glycérine, du vert malachite (antiseptique) et de l'œuf, sont les milieux les plus couramment employés. Ces milieux présentent plusieurs avantages: une bonne sensibilité, un prix de revient faible (7 dirhams le tube) et donnent un aspect caractéristique aux colonies. Mais leur préparation est délicate, longue, le délai d'apparition des colonies peut aller jusqu'à six semaines, leur durée de conservation courte et leur reproductibilité sont liées à la qualité des produits employés.

Dans chaque milieu MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) est ajouté un supplément de croissance et un cocktail d'antibiotique, ceci a pour avantage de limiter la croissance des bactéries usuelles et des levures non tuées à l'issue de la décontamination [140, 141, 142]. De plus, le délai de croissance qui est court, ce qui est très souhaitable pour traiter précocement la maladie. Certains inconvénients, inhérents à tous les milieux liquides, sont également cités comme l'absence de visualisation des colonies dont l'examen microscopique des cultures de *M. tuberculosis* (aspect en cordes) est caractéristique, la mise en évidence d'infections mixtes, le taux de contamination et le coût de revient élevé (70 dirhams le tube).

La technique rapide a présenté un avantage crucial dans le diagnostic de la tuberculose: un résultat beaucoup plus précoce, mais vu son coût très élevé et les résultats non dogmatisants pour le diagnostic de la tuberculose extrapulmonaire, la technique classique reste la méthode de choix d'ensemencement des prélèvements pulmonaires pour les laboratoires de routine; comme celui de bactériologie à l'HMIMV; avec la nécessité de combiner les deux techniques pour les prélèvements extrapulmonaires.

Vue l'émergence des résistances des mycobactéries aux antibacillaires, l'étude de l'antibacillogramme dans de nombreux cas est nécessaire, actuellement les techniques classique pour l'étude de la résistance au antibacillaires sont dépassées (trop de risque de contaminations), et ne sont utilisées que les kits de biologie moléculaire et les kits sur les milieux liquides, et c'est là où intervient la technique MGIT, vue son prix de revient beaucoup moins chère (environ 1300 dirhams le kilt pour 40 tests) que celui des kits des milieux solides (environ 1200 dirhams le kit pour un seul test).

Notre étude comporte toutefois des limites telles que la longue durée des transports de certains prélèvements et l'insuffisance de certains renseignements comme la date de pousse des cultures.

IV. CONCLUSION :

La tuberculose (extrapulmonaire tout comme la tuberculose pulmonaire) dans notre contexte reste inquiétante bien qu'elle soit moins fréquente qu'ailleurs.

Il y a plusieurs moyens de mettre en évidence les mycobactéries dans un prélèvement.

L'examen direct est le plus facile à réaliser mais, même s'il est spécifique, il est peu sensible.

Les cultures sont les éléments clef du diagnostic, elles permettent d'identifier l'espèce et de réaliser le test de sensibilité aux antibacillaires. Malgré quelques différences au niveau des résultats des cultures, et bien que la vitesse de pousse en milieu liquide soit plus rapide que celle en milieu solide, nous pouvons dire ici que les deux types de cultures (sur milieu liquide et sur milieu solide), sont complémentaires étant donné qu'elles ont la même performance. En les combinant, la sensibilité des résultats se trouvent nettement améliorée.

L'avènement de la biologie moléculaire a donné place aux premières analyses génétiques des bacilles tuberculeux. Actuellement, plusieurs travaux rapportent l'utilisation de la PCR dans le diagnostic rapide de la tuberculose [143; 144; 145; 146; 147; 150] avec une sensibilité et une spécificité variables, entre 80 et 100%.

V. RESUME :

Etude comparative des cultures des mycobactéries en milieu solide et en milieu liquide dans le diagnostic de la tuberculose à l'Hôpital Militaire Mohammed V d'Instruction de Rabat.

Mots clé : Comparative – Milieu liquide – Milieu solide – Mycobactéries – Tuberculose

Auteur : Otman RABICHI

La tuberculose est une maladie infectieuse due à une mycobactérie: *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch.

Notre travail consiste en l'étude comparative des cultures de mycobactéries en milieu solide et en milieu liquide, en la mise en évidence du rôle du laboratoire dans la confirmation du diagnostic de la tuberculose à travers l'évaluation d'une série de données colligée en quatre ans à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V (HMIMV).

Durant cette période, 4448 prélèvements ont bénéficié au même temps de la culture sur milieu solide et la culture sur milieu liquide et qui ont été recueillis de chez des patients fortement suspects atteints d'une tuberculose par la clinique et par des examens complémentaires.

L'examen direct est peut couteux, rapide, spécifique mais il manque de sensibilité, d'où l'obligation de la culture.

Pour les prélèvements pulmonaires, que ça soit la culture en milieu solide ou la culture en milieu liquide, les résultats sont pareils avec l'avantage pour cette dernière de la précocité de croissance des cultures, mais son coût trop élevé laisse dire que la culture en milieu solide est la méthode de choix pour la culture des prélèvements pulmonaires pour les laboratoires de routine.

Mais pour les prélèvements extrapulmonaires, les deux techniques sont complémentaires, d'où l'importance de combiner les deux types de cultures (en milieu liquide et en milieu solide), pour des résultats plus fiables.

Vue ses résultats plus fiables et son coût beaucoup moins chère, le Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) reste la technique de choix pour l'étude de l'antibacillogramme.

Tout ceci nous amène à dire que le Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) est devenu un outil nécessaire pour chaque laboratoire de bactériologie.

VI. ABSTRACT :

Comparative study of the cultures of the mycobacteria in solid medium and liquid medium in the diagnosis of tuberculosis in Military Hospital of Instruction Mohammed V.

Keywords: Comparative - Liquid medium - solid Medium - Mycobacteria - Tuberculosis

Author: Otman RABICHI

Tuberculosis is an infectious disease due to mycobacteria: *Mycobacterium tuberculosis* or bacillus of Koch.

Our work consists on the comparative study of the cultures of mycobacteria in solid medium and liquid medium, on the highlight of the role of the laboratory in the confirmation of the diagnosis of tuberculosis through the evaluation of a set of data collected during four years in the military hospital of instruction Mohammed V (MHIMV).

During this period, 4448 samples were incubated at the same time on the solid medium and the liquid medium. These samples were collected from suspect patients reached of tuberculosis by the private clinic and complementary examinations.

The direct examination is cheap, fast, specific but it misses sensitivity, in this way, the culture is compulsory.

For the pulmonary samples, the results of the culture in solid medium and the culture in liquid medium are similar with the advantage for the liquid medium of the precocity of growth of the cultures, but its too high cost lets say that the culture in solid medium is the method of choice for the culture of the pulmonary samples for the laboratories of routine.

But for the extrapulmonary samples, the two techniques are complementary, so it's important to combine the two types of cultures (in liquid medium and solid medium), for more reliable results.

Sight its results more reliable and its cost much less expensive, Mycobacteria Growth Indicator Tube remainder the technique of choice for the study of the antibacillogram.

All this leads us to say that Mycobacteria Growth Indicator Tube became a necessary tool for each laboratory of bacteriology.

VII. ملخص:

دراسة مقارنة لزراعة المتفطرات على الوسط الصلب و على الوسط السائل في تشخيص داء السل بالمستشفى العسكري الدراسي محمد الخامس بالرباط.

الكلمات الأساسية: - مقارنة - وسط صلب - وسط سائل - متفطرات - داء السل.
من طرف: عثمان الربيشي.

داء السل هو مرض تعفني راجع إلى متفطرة: عصية السل أو عصية كوخ.

هدف عملنا هذا هو مقارنة زراعة المتفطرات في الوسط الصلب و الوسط السائل و إبراز دور المختبر في تأكيد تشخيص داء السل من خلال تقييم سلسلة من المعطيات المستقاة خلال أربع سنوات في المستشفى العسكري الدراسي محمد الخامس بالرباط.

خلال هذه الفترة، 4448 عينة خضعت للزرع في نفس الوقت على الوسطين الصلب و السائل، هذه العينات تم جمعها من أشخاص جد مشتببه بهم أنهم مصابون بداء السل من خلال الملاحظة السريرية و التحليلات التكميلية.

الفحص المباشر غير مكلف، سريع، نوعي ولكن غير حساس، و هذا ما يدعو إلى الزراعة.

بالنسبة للعينات الرئوية، الزراعة على الوسط الصلب و الزراعة على الوسط السائل تعطيان نفس النتيجة، مع امتياز الأخيرة بسرعة نمو الزراعات، لكن ثمنها المرتفع جعل من الزراعة على الوسط الصلب هي التقنية الأنسب لزراعة العينات الرئوية بالنسبة للمختبرات الروتينية.

و لكن بالنسبة للعينات خارجات الرئة، فالتقنيتين متكاملتين، لهذا، من المهم استعمال التقنيتين معا للحصول على نتائج أكيدة.

نظرا لنتائجها الموثوق فيها و ثمنها المناسب، تبقى تقنية الزرع على الوسط السائل الطريقة الأنسب لدراسة مقاومة المتفطرات لمضادات المتفطرات.

كل هذه النتائج تدفعنا للقول بان تقنية الزرع على الوسط السائل قد أصبحت ضرورية لكل مختبر.

ANNEXE

Fiche N° 1 :

Coloration à l'Auramine

Technique de coloration :

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

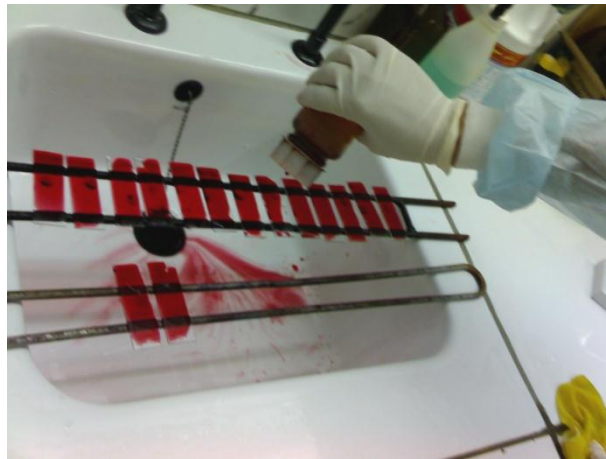


Figure 40 : recoloration avec le rouge de thiazine, service de microbiologie, HMIMV, Rabat

- * **Laver à l'eau**
- * **Sécher les lames.**

Réactifs :

Solution fluorescente d'auramine :

- * Auramine 1 g

* Eau distillée 1000 ml

Solution d'alcool-acide :

* Alcool à 90° 1000 ml

* Acide chlorhydrique concentré 5 ml

Solution de rouge thiazine :

* Rouge thiazine 1 g

* Eau distillée 1000 ml

Fiche N° 2 :

Coloration au Ziehl-Neelsen

Technique de coloration :

* Fixer les frottis à l'alcool ou à la chaleur

(Inutile si les lames sont déjà colorées à l'auramine)

* Recouvrir à la Fuschine de Ziehl pure et filtrée si nécessaire, pendant 30 mn

* Chauffer, à trois reprises, les lames jusqu'à émission de la vapeur

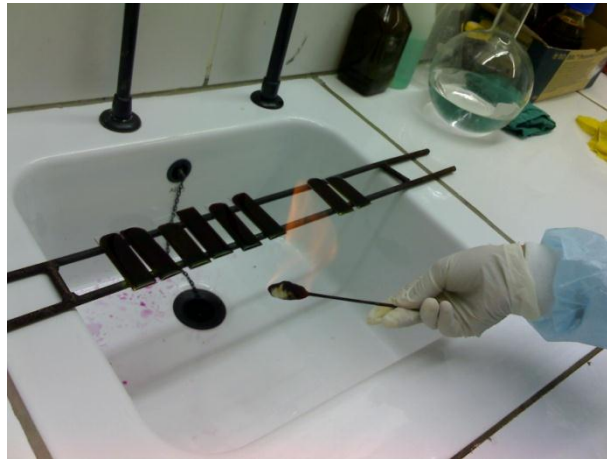


Figure 41 : Chauffage des lames (coloration de Ziehl), service de microbiologie, HMIMV, Rabat

* Laver à l'eau

* Décolorer à l'alcool-acide, pendant 3 à 4 mn

* Laver à l'eau

* Recolorer au bleu de méthylène, pendant 5 mn



Figure 42 : recoloration avec bleu de méthylène, service de microbiologie, HMIMV, Rabat

- * Laver à l'eau
- * Sécher les lames.

Réactifs :

Fuschine phéniquée de Ziehl ⁽¹⁾:

- | | |
|-------------------------|---------|
| * Fuschine basique | 1 g |
| * Phénol aqueux | 5,5 g |
| * Alcool éthylique à 95 | 10 ml |
| * Eau distillée | 1000 ml |

Solution d'alcool-acide :

- | | |
|---------------------------------|---------|
| * Alcool à 90 | 1000 ml |
| * Acide chlorhydrique concentré | 32 ml |

Bleu de Méthylène phéniquée ⁽¹⁾ :

- | | |
|-------------------------|---------|
| * Bleu de méthylène | 1 g |
| * Phénol aqueux | 2,2 g |
| * Alcool éthylique à 95 | 10 ml |
| * Eau distillée | 1000 ml |

NB : (1) réactifs pouvant être disponible et prêts à l'emploi

Fiche N°3 :

Technique classique

"Méthode au lauryl sulfate de sodium"

« Pour le traitement des prélèvements d'origine pulmonaire »

Réception des prélèvements :



Figure 43 : Réception des prélèvements, service de microbiologie, HMIMV, Rabat

- * S'assurer de l'identité du patient sur les bons d'examens et sur les pots de prélèvements ;
- * Eliminer les prélèvements salivaires ou à quantité insuffisante ;
- * Attribuer à chaque prélèvement deux numéros :
 - 1) un numéro de série
 - 2) un numéro d'enregistrement, spécifique et unique pour chaque prélèvement;
- * Enregistrer les bons.

Préparation des frottis :

- * A l'aide d'une anse préparer des frottis bien triturés étalés (2cm sur 1cm), les fixer à la chaleur.

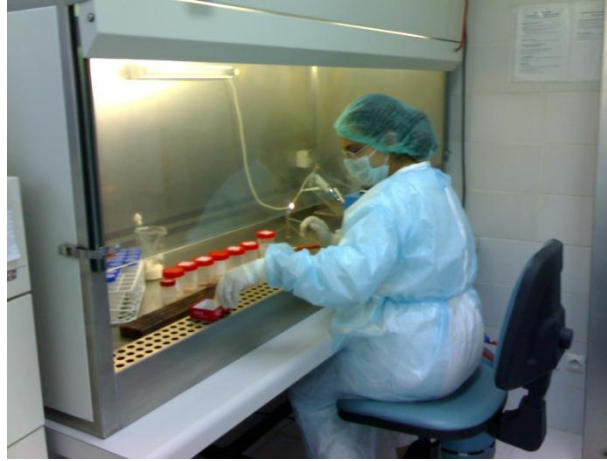


Figure 44 : Préparation des frottis, service de microbiologie, HMIMV, rabat

Traitement préalable des prélèvements :

1) Fluidification-décontamination :

- * Dans un tube falcon récupérer 3 ml du produit pathologique ;
- * Ajouter un volume égal de solution décontaminante ;
- * Vortexer et Mettre à l'étuve pendant 15 mn ;
- * Mettre en agitation pendant 15 mn.

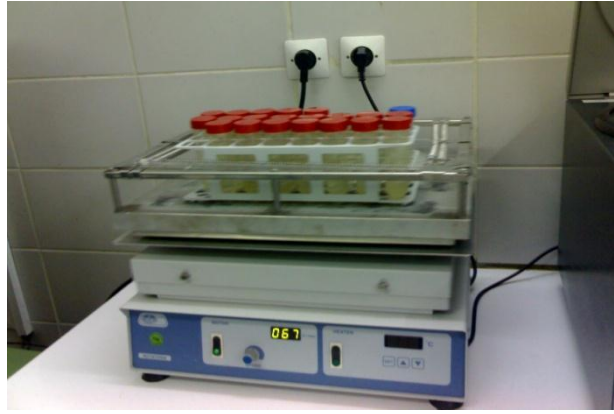


Figure 45 : Appareil agitateur, service de microbiologie, HMIMV, rabat

2) Neutralisation :

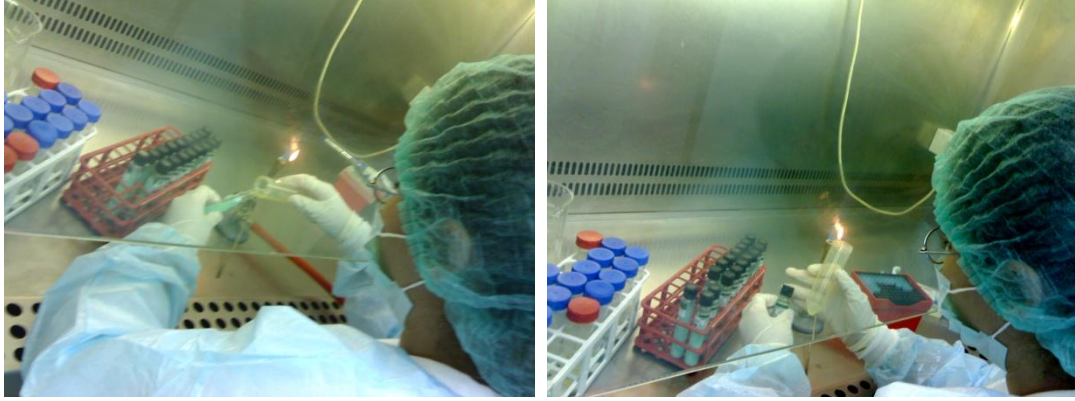
- * Ajouter au prélèvement décontaminé la solution neutralisante, jusqu'à obtenir un virage au jaune ;
- * Centrifuger pendant 15 mn à 3000 tours.



Figure 46 : Etape de centrifugation, service de microbiologie, HMIMV, Rabat

Ensemencement

- * Rejeter le surnageant ;
- * A partir du culotensemencer les milieux de culture solides : un Löwenstein-jensen et un coletsos (environ 200 μ l par tube) ;



Figures 47 : Ensemencement dans les milieux solides, service de microbiologie, HMIMV, Rabat

- * Laisser les tubes légèrement dévissés ;
- * Incuber en position inclinée, à 37°C;
- * Refermer les tubes après évaporation du liquide (48à 72h).

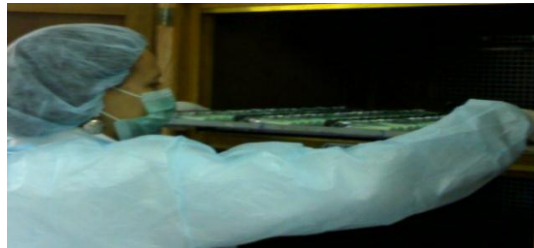


Figure 48 : Dépôt des milieux de culture dans l'étuve, service de microbiologie, HMIMV, Rabat

Fiche N°4 :

Préparation des solutions de décontamination et de neutralisation

Solution décontaminante (Lauryl sulfate) :

- * Lauryl sulfate pur.....30 g
- * hydroxyde de sodium pur en pastille.....10 g
- * Eau distillée.....1000 ml

Préparer la solution et la laisser à une température d'environ 50°, jusqu'à dissolution totale du lauryl sulfate. (Solution auto-stérilisable)

Solution neutralisante :

- * Bromocrésol pourpre, solution aqueuse à 0,4% 2 ml
- * Acide phosphorique pur 2 ml
- * Eau distillée 1000 ml

Solution à autoclaver à 120°C pendant 20 mn

Fiche N° 5 :

Technique de culture en milieu liquide "MGIT"

« Pour le traitement des prélèvements extra pulmonaires »

Réception des prélèvements :

- * S'assurer de l'identité du patient sur les bons d'examens et sur les pots de prélèvements ;
- * Eliminer les prélèvements salivaires ou à quantité insuffisante ;
- * Attribuer à chaque prélèvement deux numéros :
 - 1) un numéro de série
 - 2) un numéro d'enregistrement, spécifique et unique pour chaque prélèvement;
- * Enregistrer les bons.

Préparation des frottis :

- * A l'aide d'une anse préparer des frottis bien triturés et bien étalés (2cm /1cm), les fixer à la chaleur.

Traitement préalable des prélèvements :

1) Fluidification-décontamination :

- * Dans un tube falcon récupérer 5 ml du produit pathologique ;
- * Ajouter un volume égal de la solution MycoPrep⁽¹⁾ (préparée extemporanément en brisant l'ampoule se trouvant à l'intérieur du flacon;
- * vortexer et Mettre en agitation pendant 15 mn.

2) Neutralisation :

- * Ajouter la solution de Tampon Phosphate ⁽¹⁾ jusqu'à arriver au volume de 45 ml;
- * Centrifuger pendant 15 mn à 3000 tours.

Ensemencement

- * Rejeter le surnageant ;
- * A partir du culot ensemer, à raison de 200 µl par tube:
 - 1) le milieu de culture liquide auquel on ajouté au préalable 800 µl du mélange PANTA-OADC*⁽¹⁾ préparé extemporanément ;
 - 2) les milieux de culture solides : un Löwenstein-jensen et un coletsos
- * Laisser les tubes légèrement dévissés ;
- * Incuber les milieux de culture liquides dans l'automate « MGIT »
- * Incuber les milieux de culture solides en position inclinée, à 37°C;
- * Refermer les tubes après évaporation du liquide.

NB : (1) réactifs ou solution pouvant être conservés à + 4°C, pendant 48 heures.

PANTA : polymyxineB, amphotéricine, acide nalidixique, tazobactam, azlocilline.

OADC : Acide Oléique ; Albumine ; Dextrose ; Catalase

Fiche N° 6 :

Préparation des solutions et réactifs nécessaires à la culture en milieu liquide "MGIT"

Toutes les solutions et réactifs sont préparés extemporanément et pouvant être conservés à + 4°C dans un délais de 48 heures.

1) solution décontaminante MycoPrep :

- * Desserrer le bouchon du flacon du réactif Mycoprep ;
- * Appuyer pour faire échapper l'air, puis refermer le flacon ;
- * Presser l'ampoule jusqu'à ce qu'elle se brise ;
- * Mélanger en agitant doucement pour dissoudre le NaCl dans le NaOH

2) Solution tampon Phosphate :

- * Verser le contenu d'un sachet dans un flacon contenant 500 ml d'eau distillée stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 15 mn.
- * laisser refroidir jusqu'à température ambiante, et l'utiliser.

3) Mélange PANTA-OADC :

- * A proximité du bec bunsen, ouvrir les flacons PANTA et OADC ;
- * Transvaser le contenu du flacon OADC dans le flacon PANTA ;
- * Mélanger jusqu'à dissolution complète.

Fiche N°7 :

Test à la Niacine

Mycobacterium tuberculosis et quelques isolats de *Mycobacterium simiae* et *Mycobacterium chelonae* produisent l'acide nicotinique durant leur croissance. Ces souches ne métabolisent pas l'acide nicotinique qui se trouve, de ce fait, accumulé au niveau de la gélose.

La détection de l'acide nicotinique au niveau de la gélose est un test important pour la confirmation de l'espèce *Mycobacterium tuberculosis*.

Composition du Kit :

Flacon A : 1 ml

Flacon B : 1 ml

Flacon R₀₅₅ : 4 ml

Seringues stériles d'1 ml

Mode opératoire

A- Préparation de la solution test :

Transférer le contenu du flacon A dans le flacon B (solution à utiliser pour réaliser le test).

B- Préparation de l'échantillon :

- 1- Utiliser des cultures datant de plus de trois semaines (les faux négatifs sont obtenus avec des cultures jeunes et avec peu de colonies = la culture doit être vieille, pure et abondante).
- 2- Ajouter 2 ml de sérum salé ou d'eau distillée stérile à la culture.
- 3- Remuer la culture dans l'eau distillée, pour libérer l'acide nicotinique existant au niveau de la gélose.

4- Incuber dans un bain-marie à 37°C, pendant 2 heures ou placer le tube en position horizontale pendant 20 minutes.

5- Remettre le tube ne position verticale pendant 5 minutes.

6- Transférer, séparément, dans les flacons de solution de réaction et grâce aux seringues fournies avec le Kit:

* 1 ml de l'échantillon (souche).

* 1 ml de R₀₅₅ (pour le contrôle positif)

* 1 ml d'eau distillée stérile (pour le contrôle négatif)

C- Lecture de la réaction dans les 5 minutes qui suivent.

- Une réaction positive se traduit par une coloration jaune.
- Une réaction négative montre, l'absence de coloration au bout de 5 minutes.

Conditions de travail et Précautions d'emploi du réactif Niacine :

- procédure de sécurité habituelle (hote)
- produits cancérigènes.
- Utilisation de gants et de masques.
- Neutralisation par du NaOH à 10% avant de jeter à la poubelle.
- Lavage des seringues à l'eau distillée stérile avant de jeter à la poubelle.

Conditions de conservation :

- à l'abri de la lumière
- à + 4°C, pendant 06 mois.
- Loin de tout produit acide

Fiche N° 8 :

Test de NITRATE-REDUCTASE (Virtanen-Boisvert)

Principe :

Les Mycobactéries possédant une nitratase vont réduire les nitrates de sodium après deux heures d'incubation.

Réactifs :

(1) Solution de nitrates :

- | | |
|---------------------|---------------|
| - NaNO ₃ | 0.850 g |
| - Tween 80 | 50 ml |
| - Eau distillée | q.s.p 1000 ml |

(2) Réactifs de GRIESS

Réactif I :

- | | |
|---------------------|--------|
| -Acide sulfanilique | 0.8 g |
| - Acide acétique 5N | 100 ml |

Réactif II :

- | | |
|-----------------------|--------|
| - Acide acétique 5N | 100 ml |
| - Alpha naphthylamine | 0.5 g |

Technique :

- Recouvrir de 2ml de solution de nitrate une culture pure de Mycobactéries sur LJ âgée de 2 semaines ou plus.
- Mettre, à l'étuve à 37°C, pendant 2 heures
- Ajouter 0.3 ml du réactif I, puis 0.3 ml du réactif II.

Interprétation :

Réaction positive : Coloration rouge à framboise vif.

Fiche N° 9 :

Test à l'UREASE

Principe :

Les Mycobactéries possédant une uréase font virer le milieu urée-indol à l'indigo par formation de carbamate d'ammonium alcalin.

Réactifs :

Milieu urée-indol

Technique :

- Faire une suspension épaisse de culture dans 0.4 ml du milieu urée-indol.
- Mettre, à l'étuve à 37 °C.
- Lire à 2, 6 et 18 heures

Interprétation :

Réaction positive : Coloration rouge.

Fiche N° 10 :

Calcul des indices informationnels :

	Malade positif	Malade négatif	total
Test positif	A (VP*)	B (FP*)	A +B
Test négatif	C (FN*)	D (VN*)	C+D
total	A+C	B+D	A+B+C+D

VP (Vrai Positif): test diagnostique affirmant qu'un patient malade présente la maladie recherchée

VN (Vrai Négatif) : test diagnostique affirmant qu'un patient ne présente pas la maladie recherchée

FN (Faux Positif) : test diagnostique affirment à tort qu'un patient présente la maladie recherchée

FP (Faux Positif) : test diagnostique affirment à tort qu'un patient ne présente pas la maladie recherchée

• **Calcul de la sensibilité :**

Sensibilité = $VP / (VP+FN)$, c'est la probabilité d'avoir un test positif quand on est malade.

• **Calcul de la spécificité :**

Spécificité = $VN / (VN+FP)$, c'est la probabilité d'avoir un test négatif quand on n'est pas malade

• **Calcul de la valeur prédictive positive (VPP) :**

VPP = $VP / (VP+FP)$, c'est la probabilité d'avoir la maladie quand le test est positif

• **Calcul de la valeur prédictive négative (VPN) :**

VPN = $VN / (VN+FN)$, c'est la probabilité de ne pas avoir la maladie quand le test est négatif

BIBLIOGRAPHIE

- [1] **Reichman L.B and Hershfield E.S.** Tuberculosis: a comprehensive international approach. New York: Marcel Dekker **2000**.
- [2] **Mohle-Boetani J.C, Miguelino V, Dewsnap D.H, Desmond E, Horowitz E, Waterman S.H. et al.** Tuberculosis Outbreak in a Housing Unit for Human Immunodeficiency Virus Infected Patients in a Correctional Facility: Transmission Risk Factors and Effective Outbreak Control. *Clinical Infectious Diseases* **2000**; 34: 668-76.
- [3] **Raviglione M.C., Snider D.E. and Kochi A.** Global epidemiology of tuberculosis. *JAMA* 1995; 273: 220-6.
- [4] **Billo N.E.** Tendances épidémiologiques de la tuberculose. *Rev. Prat* **1996**; 46: 1332-5.
- [5] **Chantal J.** A propos de la tuberculose. Environnement et Santé Publique Vétérinaire. Numéro spécial: Tuberculose. *Bulletin de liaison de l'association Francophone pour l'étude des relations Environnement-Santé Publique Vétérinaire* **2001**; 16p.
- [6] **Dolin P.J, Raviglione M.C, and Kochi A.** Global Tuberculosis incidence and mortality during 1990-**2000**. *Bull. World Health Org* **1994**; 72: 213-20.
- [7] **WHO.** Antituberculosis drug resistance in the world: The WHO/IUATLD global project on antituberculosis drug resistance surveillance 1994-1997. Geneva, Switzerland. *WHO global Tb program* **1997**; (WHO/TB/97. 229).
- [8] **Rapport de l'OMS 2009.**
- [9] **Direction d'épidémiologie et la lutte contre les maladies;** service des maladies respiratoires **2009**. Maroc.
- [10] **Lévy-Frébault V.** Méthodes rapides de détection et de diagnostic des mycobactéries : Actualités et perspectives. *Méd. Mal. Infect* **1992**; 22: 391-406.
- [11] **Kanai K.** Introduction to Tuberculosis and Mycobacteria. *SEAMIC/IMFJ*. Tokyo. Japan **1990**; 221p.
- [12] **Bendadda O.** Tuberculose humaine à *Mycobacterium bovis*: Enquête bactériologique. *Th sc. Fes* **2003**.
- [13] **Cosivi O, Meslen F.X, Daborne C.J. and Grange J.M.** Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in animals and humans, with particular reference to Africa. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz* **1995**; 14: 733-46.
- [14] **Merchant I.A and Barner R.D.** An outline of infectious diseases of domestic animals. 3rd edition. *Iowa State University Press* **1981**. Ames Iowa, U.S.A.
- [15] **Zink A.R, Sola C, Reischl U, Brabner W, Rastogi N, Wolf H. et al.** Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* Complex DNAs from Egyptian Mummies by Spoligotyping. *J. Clin. Microbiol* **2003**; 41: 356-67.

- [16] **Giuliani P.** Contribution à l'étude de la tuberculose zoonose à *Mycobacterium bovis*. Enquêtes épidémiologiques de 7 cas dans le département de l'Isère. *Th. Vét. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon* **1978**; France.
- [17] **Basset J.** Notions préliminaires. Chapitre premier dans: Immunologie et prophylaxie de la tuberculose. *Vigot frères. Paris, France* **1953**; 1-3.
- [18] **Collins C.H. and Grange J.M.** The bovine tubercle bacilli. *J. App. Bacteriol* **1983**; 55:13-29.
- [19] **Grange J.M.** Mycobacterial diseases. Currents topics in infection: N°1. Edward Arnold Publishers. Ltd., U.K **1980**.
- [20] **Hansen G.A.** Undersogelser angaaende spedalskhedens arsager. *Norsk Magasin for laegevitenskapen* 1874; 4: 1-88.
- [21] **Koch R.** Die Aetiologie der Tuberculose. *Berliner Klinische Wochenschrift: Organ für practische Aertze* **1882**; 15: 221-30.
- [22] **Parriaud P.J.** Contribution à l'étude de la fiabilité des tests employés dans le dépistage de la tuberculose bovine. *Th. Vét. E.N.V. Toulouse, France* **1985**.
- [23] **Kubica L and Wayne G.** The Mycobacteria: a Sourcebook, part B. *Dekker. New York* **1984**.
- [24] **Lowell A.M.** Tuberculosis: its social and economic impact and some thoughts on epidemiology. Part B. *Dekker, New York* **1984**.
- [25] **Buhler V.B and Pollak A.** The cultural characteristics and animal pathogenicity of an atypical acid fast organism which causes human diseases. *Amer. Rev. Tub* **1955**; 71: 74-87.
- [26] **Castets M, Boisvert H, Grumbach F, Brunel H. and Rist N.** Les bacilles tuberculeux de type africain. *Rev. Tub. Pneum* **1968**; 32: 179-84.
- [27] **Hale Y.M., Pfyffer G.E. and Salfinger M.** Laboratory diagnosis of Mycobacterial infections: New tools and lessons learned. *Clin. Infect. Dis* **2001**; 33: 834-46.
- [28] **Rastogi N, Legrand E and Sola C.** The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz* **2001**; 20: 21-54.
- [29] **David HL.** Bacteriology of the mycobacteriosis. *Centers for disease control* **1976**; 1-166.
- [30] **Grosset J, Boisvert H, Truffot-Pernot C.** Mycobactéries, Bactériologie médicale. *Médecine-Sciences Flammarion* **1984**; 965-1017.
- [31] **Brennan PJ, Nikaido H.** The envelope of mycobacteria. *Annu Rev Biochem* **1995**; 64: 29-63.

- [32] **Daffé M, Draper P.** The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. *Adv Microbiol Physiol* **1998**; 39: 131-203.
- [33] **Mokanda M.** Etude comparative des cultures des mycobactéries typiques en milieu solide et en milieu liquide dans le diagnostic de la tuberculose extrapulmonaire. *Th. Pha. Faculté de médecine et de pharmacie. Rabat* **2010**.
- [34] **Abramson S.** The failure of chick embryo extract to accelerate the growth of tubercle bacilli. *Am. Rev. Tuber* **1952**; 65: 783
- [35] **Canetti G, Rist N, Grosset J.** Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Rev. Tuberc Pneumol* **1963**; 27: 217-72.
- [36] **Kubica GP.** Clinical microbiology. The mycobacteria, a source book. *Marcel Dekker*: **1984**; 133-75.
- [37] **Wilson G.S and Miles A.** Topley and Wilson's Principles of bacteriology, virology and immunology. Vol.1. 6th ed. *Edward Arnold Publishers Ltd* 1975; 1 (6): 565-612.
- [38] **Gonzalez J, Tudo G, Garcia A, Navarro M, Jimenez DE et Anta MT.** Use of microscopic morphology in smears prepared from radiometric cultures for presumptive identification of Mycobacterium tuberculosis complex, Mycobacterium avium complex, Mycobacterium kansasii, and Mycobacterium xenopi. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1998**; 17: 493-500.
- [39] **Maugein J et Bébéar C.** Diagnostic microbiologique de la tuberculose et intérêt de la PCR. *Médecine et maladies infectieuses* **2003**; 33: 153-8.
- [40] **George KL, Parker BC, Gruft H, Falkin-Ham JO.** Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria II. *Am Rev Respir Dis* **1980**; 122 89-94.
- [41] **Vincent-Levy-Frebault V.** Écologie des mycobactéries et mode de contamination humaine. *Méd Mal Infect* 1991; 21: 16-25.
- [42] **David HL, Lévy-Frébault V, Thorel MF.** Méthodes de laboratoire pour mycobactériologie. *Institut Pasteur de Paris* 1986: 1-87.
- [43] **Blood D.C., Henderson J.A. and Radostitis O.M.** Diseases caused by bacteria. IV in: Veterinary medicine. A text book of the disease of cattle, sheep, pigs and horses, Fifth ed. *Baillière. Tindall, London* **1981**.
- [44] **Tison F. and Carbonnelles B.** Recherche, isolement et étude du bacille tuberculeux et des autres mycobactéries en pratique courante. *Editions Crouan & Roques* **1972**.
- [45] **Guide de la lutte anti tuberculeuse.** Royaume du Maroc Edition **2009**.
- [46] **van Genus H.A., Meijer J. and Styblo K.** Résultats de l'examen des sujets en contact avec des malades tuberculeux à Rotterdam, 1967-1969. *Bull. Union Int. Tub. Mal. Resp* **1975**; 50: 105-19.

- [47] **Fowler M.E.** Zoo and wild animal medicine. Philadelphia: W.B. *Saunders Company* 1986. 1121-7.
- [48] **Nguyen TM, Ilef D, Jarraud S, Rouil L, Campese C and D.** A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers—how far can contaminated aerosols spread? *J Infect Dis* **2006**; 193: 102-7.
- [49] **Cosivi O., Meslen F.X., Daborne C.J. and Grange J.M.** Epidemiology of Mycobacterium bovis in animals and humans, with particular reference to Africa. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz* **1995**; 14: 733-46
- [50] **Rodrigues LC, V.K. Diwan VK, Wheeler JG.** Protective effect of BCG against tuberculous meningitis and miliary tuberculosis. *Int J Epidemiol* **1993**; 22: 1154-8.
- [51] **Aronson NE, Santosham M, Comstock GW, Howard RS.** Long term efficacy of BCG vaccine in American Indians and Alaska natives. *A 60-year follow-up study* **2004**; 291: 2086-91.
- [52] **Groupe de travail du Conseil supérieur d'hygiène publique de France.** Prévention et prise en charge de la tuberculose en France **2004** ; 34 : 334-7.
- [53] **Grzybowski S., Barnett G. and Styblo K.** Sujets en contact avec des cas de tuberculose pulmonaire active. *Bull. Union Int. Tub. Mal. Resp* **1975**; 50: 87-104.
- [54] **Seijeoung K.** Gender and tuberculosis among inmates. Thesis (Ph.D). University of Illinois. *Chicago Health Sciences Center* **2001**; 128p.
- [55] **Auregan G.** Les indicateurs épidémiologiques de la tuberculose : Etude Originale. *Cahier Santé* **1997**; 7: 97-102.
- [56] **Dannenberg A.M.** Immune mechanism in the pathogenesis of pulmonary tuberculosis. *Rev. Infect. Dis* **1989**; 52: 369.
- [57] **Youmans G.P.** Epidemiology of tuberculosis. *Saunders Company* **1979**; 356-69.
- [58] **El Baghdadi J.** Epidémiologie et immuno-génétique de la tuberculose au Maroc. *Th. Doc d'Université. Univ. Sidi Med Ben Abdellah, Fac. des Sciences Dhar Mehrez* **1999**. Fès. Maroc.
- [59] **El Baghdadi J Lazraq R Ibrahimy S Bouayad Z Guinet R and Benslimane A.** Survey of primary drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in Casablanca, Morocco. *Int. J. Tuberc. Lung Dis* **1997**; 1: 309-13.
- [60] **Groupe de travail du conseil supérieur d'hygiène publique, France.** Diagnostic clinique et bactériologique de la tuberculose. *Médecine et Maladies Infectieuses* **2004**; 34: 364-70.

- [61] **Lopes C, Alves H, Rabadao E, Olivera J, Pombo V, Saraiva Da Cunha et al.** Infection a VIH et tuberculose, propos de 32 cas. *Méd Mal Infect* **1995**; 25: 830-834.
- [62] **Lacut J. Y, Dupon M et Paty M. C.** Tuberculoses extra-pulmonaires : revue et possibilités de diminution des délais d'intervention thérapeutique. *Méd Mal Infect* 1995; 25: 304-20.
- [63] **Joosten AA, Van der Valk PD, Geelen JA, Severin WP, Jansen Steur EN.** Tuberculous meningitis, pitfalls in diagnosis. *Acta Neurol Scand* **2000**; 102: 388-94.
- [64] **Katrak SM, Shembalkar PK, Bijwe SR, Bhandarkar LD.** The clinical, radiological and pathological profile of tuberculous meningitis in patients with and without human immunodeficiency virus infection. *J Neurol Sci* **2000**; 181: 118-26.
- [65] **Ben Taarit C, Turki S et Ben Maïz H.** La tuberculose ostéoarticulaire en Tunisie : étude rétrospective de 180 cas. *Médecine et maladies infectieuses* **2002**; 33 (2003): 210-214.
- [66] **Boccon-Gibod L.** L'urologue et la tuberculose. *Vie Med* **1974**; 55: 3497-501.
- [67] **Boury-Heyler C, Escher M, Benzaken JP, Scali P.** Tuberculose et stérilité à propos de 74 cas. *CR Soc Fr Gynecol* **1971**; 41: 467-80.
- [68] **Castria MA, Piegari NS, Loza CA, Casazza MJ .**Tuberculome du testicule. *Rev Argent Urol* 1972; 41: 33-5.
- [69] **Lacut JY, Dupon M, Dupon MC, Paty.** Revue et possibilité de diminution des délais d'intervention thérapeutique. *Med. Mal. Infect.* **1995**; 25: 304-20.
- [70] **Rooney JJ, Crocco JA, Lyons HA.** Tuberculous pericarditis. *Ann Intern Med* **1970**; 72: 73.
- [71] **Chou CK, Liu GC, Yang CW, Chen LT, Sheu RS, Jaw TS.** Abdominal MR imaging following antegrade air introduction into the intestinal loops. *Abdom Imaging* **1993**; 18: 205-10.
- [72] **Ceccanti JP, Chauvin G, Lepeu G, Banon F, Raymond-Gelle MC, Seznec A.** La forme pseudotumorale de la tuberculose hépatique : à propos d'une observation. *Ann Chir* 1985; 39: 326-9.
- [73] **Patel S, Kulkarni A, Agrawal R, Shahwali A.** Cutaneous tuberculosis associated with infliximab treatment. *Am. J. Gastroenterol* **2003**; 98: 185-6.
- [74] **Gain P, Mosnier JF, Gravelet C, Sannace C, Boucheron S, Maugery J.** Tuberculose irienne. À propos d'une observation diagnostiquée par iridectomie. *J Fr Ophtalmol* **1994**; 17: 525-8.

- [75] **Campinchi-Tardy F, Darwiche A, Bergmann JF, Chedin P, Nemeth J, Campinchi R , et al.** Tubercules de Bouchut et sida à propos de 3 cas. *J Fr Ophthalmol* **1994**; 17: 548-54.
- [76] **Kangale K. T.** La fréquence de la tuberculose pulmonaire en milieu carcéral de Bmako. *Th. Pha. FMP.* **2005**; Mali.
- [77] **Bakary S.** Contribution à l'étude bactériologique de la tuberculose pulmonaire à Bamako. *Th. Pha.* **2004**. Mali.
- [78] **Lacut J. Y, Dupont M et Paty M.C.** Tuberculoses extrapulmonaires ». Revue et possibilité de diminution de délais d'intervention thérapeutique. *Med. Mal. Inf.* **1995**, 25 (3): 304.
- [79] **Mohle-Boetani J.C, Miguelino V, Dewsnap D.H, Desmond E, Horowitz E, Waterman S.H and al.** Tuberculosis Outbreak in a Housing Unit for Human Immunodeficiency Virus Infected Patients in a Correctional Facility: Transmission Risk Factors and Effective Outbreak Control. *Clinical Infectious Diseases* **2002**; 34: 668-76.
- [80] **Lespritt P et Molina J. M.** La co-infection VIH-tuberculose. *Mdd Mal Infect* 1996; 26: 918-21.
- [81] **Garg SK, Tiwari RP, Chandra R, Malhotra D, Ramnani VK, Prasad GBKS et al.** Diagnosis of Tuberculosis: Available Technologies, Limitations, and Possibilities. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* **2003**; 17:155-63.
- [82] **Warren J.R, Bhattacharya M, De Almeida K.N.F, Trakas K, and Peterson L.R.** A Minimum 5.0ml of Sputum Improves the Sensitivity of Acid-fast Smear for Mycobacterium tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* **2000**; 161: 1559-62.
- [83] **Grosset J.** Place des examens microbiologiques et anatomopathologiques dans la décision diagnostique et thérapeutique. *Med Mal Infect* **1995**; 25: 327-33.
- [84] **Metchock B G, Nolte F S and Wallace R J.** Manual of Clinical Microbiology. *ASM Press, Washington, D.C* **1999**; 7: 399-437.
- [85] **Saiki R K, Gelfand D H, Stoffel S, Scharf S J , Higuchi R and al.** Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* **1988**; 239: 487-91.
- [86] **Troesh A, Nguyen C, Miyada D, Desvarenne D, Gingeras T. Kaplan P, et al.** Mycobacterium species identification and rifampicin resistance testing with high density DNA probes assays. *J Clin Microbiol* **1999**; 37: 49-55.
- [87] **Bogard M, Vincelette J, Antinozzi R, Alonso R, Fenner T, Schirm J, et al.** Multicenter study of a commercial, automated Polymerase Chain Reaction system for the rapid detection of Mycobacterium tuberculosis in

respiratory specimens in routine clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2001**; 20: 724–31.

- [88] **Maugein J, Fourche J, Vacher S, Grimond C, Bébéar C.** Evaluation of the BDProbeTec™ ET DTB Assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex from clinical samples. *Diag Microbiol Infect Dis* **2002**; 44: 151–5.
- [89] **O'Sullivan C, Miller D, Schneider P, Roberts G.** Evaluation of Gen-Probe amplified Mycobacterium tuberculosis Direct Test by using respiratory and non respiratory specimens in a tertiary care center laboratory. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 1723–7.
- [90] **Garrino MG, Glupczynski Y, Degraux J, Nizet H, Delmée M.** Evaluation of the Abbott LCx Mycobacterium tuberculosis Assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis Complex in human samples. *J Clin Microbiol* **1999**; 37: 229–32.
- [91] **Johansen IS, Homsen V, Johansen A, Andersen P, Lundgren B.** Evaluation of a new commercial assay for diagnosis of pulmonary and non pulmonary tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2002**; 21: 455–60.
- [92] **Pfyffer G, Welscher HM, Kissling P.** Pretreatment of clinical specimens with sodium dodecyl (lauryl) sulfate is not suitable for Mycobacteria Growth Indicator Tube cultivation method. *J Clin Microbiol* **1997**; 35: 2142–4.
- [93] **Middlebrook G.** Automatable radiometric detection of growth of Mycobacterium tuberculosis in selective media. *Am Rev Resp Dis* **1977**; 115: 1066–9.
- [94] **Carbonnelle B, Carpentier E, Bauriaud R, Castet M, Chippaux C, Danjoux MF, et al.** Utilisation de la méthode Bactec 460 TB pour le diagnostic bactériologique de la tuberculose. Résultats d'une étude multicentrique. *Path Biol* **1995**; 43: 401–6.
- [95] **Morgan MA, Horstmeier CD, DeYoung DR.** Comparison of a radiometric method (Bactec) and conventional culture media for recovery of mycobacteria from smear negative specimens. *J Clin Microbiol* **1983**; 18: 384–8.
- [96] **Hanna BA, Ebrakimzadeh A, and Elliot LB.** Multicenter evaluation of the Bactec MGIT 960 system for recovery of mycobacteria. *J Clin Microbiol* **1997**; 35: 748–52.
- [97] **Pfyffer G, Welscher H, Kissling P, Cieslak C, Casal MJ, Gutierrez J, et al.** Comparison of the Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) with Radiometric and solid culture for recovery of acid fast bacilli. *J Clin Microbiol* **1997**; 35: 364–8.
- [98] **Pfyffer G, Cieslak C, Welscher H, Kissling P, Rüscher-Gerdes S.** Rapid detection of mycobacteria in clinical specimens by using the automated

Bactec 9000MB system and comparison with radiometric and solid-culture systems. *J Clin Microbiol* **1997**; 35: 2229–34.

- [99] **Carricajo A, Fonsale N, Vautrin AC, Aubert G.** Evaluation of BacT/Alert 3D liquid culture system for recovery of Mycobacteria from clinical specimens using sodium dodecyl (lauryl) sulfate-NaOH decontamination. *J Clin Microbiol* **2001**; 39: 3799–800.
- [100] **Harris G, rayner A, Blair J, Watt B.** Comparison of three isolation systems for the culture of mycobacteria from respiratory and non respiratory samples. *J Clin Pathol* **2000**; 53: 615–8.
- [101] **Sharp SE, Lemes M, Erlich SS, Poppiti RJ.** A comparison of the Bactec 9000 MB system and the Septi-chek AFB system for the detection of mycobacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis* **1997**; 28: 69–74.
- [102] **Cambau E, Wichlacz C, Truffot-Pernot C, Jarlier V.** Evaluation of the new MB Redox system for detection of growth of mycobacteria. *J Clin Microbiol* **1999**; 37: 2013–5.
- [103] **Reisner BS, Gatson AM, Woods GL.** Use of Gen-Probe AccuProbes to identify Mycobacterium avium complex, Mycobacterium tuberculosis complex, Mycobacterium kansasii, and Mycobacterium gordonae directly from BACTEC TB broth cultures. *J Clin Microbiol* **1994**; 32: 2995–8.
- [104] **Scaparo C, Piccoli P, Rigon A, Ruggiero G, Nista D, Piersimoni C.** Direct identification of Mycobacteria from MB/BacT Alert 3D bottles: comparative evaluation of two commercial probe assays. *J Clin Microbiol* **2001**; 39: 3222–7.
- [105] **Mäkinen J, Sarkola A, Marjamäki M, Viljanen M, Soini H.** Evaluation of GenoType and LiPA Mycobacteria assays for identification of finnish mycobacterial isolates. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 3478–81.
- [106] **Ruiz P, Gutierrez J, Zerolo FJ, Casal M.** GenoType Mycobacterium assay for identification of mycobacterial species isolated from human clinical sample by using liquid medium. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 3076–8.
- [107] **Talenti A, Marchesi F, Balz M, Bally F, Bottger EC, Bodner T.** Rapid identification of mycobacteria to species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol* **1993**; 31: 175–8.
- [108] **Kirschner P, Springer B, Vogel U, Meier A, Wrede A, Kiekenbeck M, et al.** Genotypic identification of mycobacteria by nucleic acid sequence determination: report of a 2-year experience in a clinical laboratory. *J Clin Microbiol* **1993**; 31: 2882–9.
- [109] **Magdalena J, Vachée A, Supply P, Locht C.** Identification of a new DNA region specific for members of Mycobacterium tuberculosis complex. *J Clin Microbiol* **1998**; 36: 937–43.

- [110] **Canetti G, Rist N, Grosset J.** Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Rev Tuberc* **1963**; 27 (72): 217.
- [111] **Tortoli E, Benedetti M, Fontanelli A, Simonetti MT.** Evaluation of automated BACTEC MGIT 960 system for testing susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to four major antituberculous drugs: comparison with the radiometric BACTEC 460TB method and the agar plate method of proportion. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 607–10.
- [112] **Heiffets L.** Quantitative and qualitative drug susceptibility tests in mycobacteriology. *Am Rev Dis* **1988**: 1217–22.
- [113] **Rossau R, Traore H, De Beenhouwer H, Mijs W, Jannes G, De Rijk P, et al.** Evaluation of the INNO-LiPA Rif. TB assay, a reverse hybridization assay for the simultaneous detection of Mycobacterium tuberculosis complex and its resistance to rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* **1997**; 41: 2093–8.
- [114] **Robert J, Trystram D, Truffot-Pernot C, Jarlier V.** Surveillance de la tuberculose à bacilles multirésistants en France en 1998. *BEH* **2002**; 16-17: 71–5.
- [115] **Turner M, van Nerom E, Nyabenda J, Waelbroeck A, Duvivier A, Toppet M.** Determination of humoral immunoglobulins M and G directed against mycobacterial antigen 60 failed to diagnose primary tuberculosis and mycobacterial adenitis in children. *Am J Respir Crit Care Med* **1994**; 150: 1508–12.
- [116] **Gounder C, De Queiroz Mello FC, Conde MB, Bishai WR, Kritsi AL, Chaisson RE, et al.** Field evaluation of a rapid immunochromatographic test for tuberculosis. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 1989–93.
- [117] **Reddy JR, Kwang J, Lechtenberg KF, Khan NC, Prasad RB, Chengappa MM.** An immunochromatographic serological assay for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **2002**; 25: 21–7
- [118] **Simonney N, Bourillon A, Lagrange PH.** Analysis of circulating immune complexes (CICs) in childhood tuberculosis: levels of specific antibodies to glycolipid antigens and relationship with serum antibodies. *Int J Tuberc Lung Dis* **2000**; 4: 152–60.
- [119] **Tattevin P.** Le traitement de la tuberculose en 2007. *Médecine et maladies infectieuses* **2007**; 37: 617–28.
- [120] **Senneville E.** Traitement des patients porteurs de souches résistantes. *Méd Mal Infect* **1995**; 25: 369-76.
- [121] **Groupe de travail du Conseil supérieur d'hygiène publique en France.** Traitement de la tuberculose-maladie. *Médecine et maladies infectieuses* **2004**; 34: 375–81.

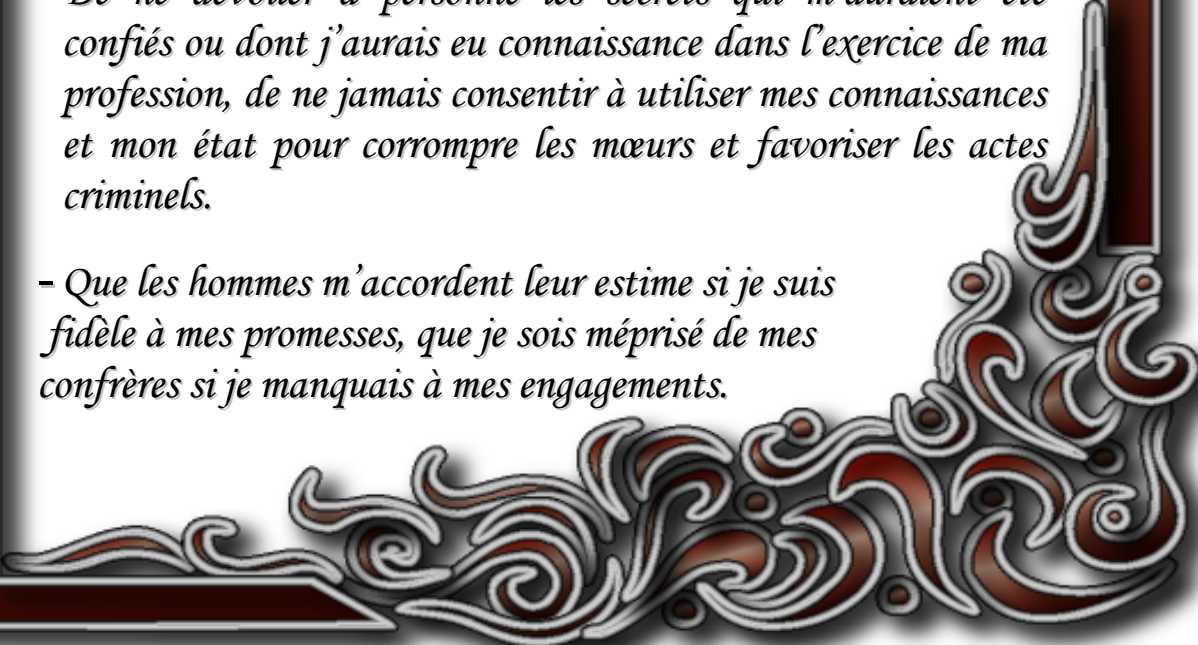
- [122] **Poulet S.** Organisation génomique de *Mycobacterium tuberculosis* et épidémiologie moléculaire de la tuberculose. *Thèse de Doctorat. Université Paris 1994*; 6: 190.
- [123] **Grosset J.** Place des examens microbiologiques et anatomopathologiques dans la décision diagnostique et thérapeutique, *Méd Mal Infect 1995*; 25: pp. 327–33.
- [124] **Kim TC, Blackman RS, Heatwole KM, Kim T, Roches.** Prevalence and significance of negative smears pretreatment and positive smears post-treatment. *Am Rev Respir Dis 1984* ; 129 : 264-68.
- [125] **Murray PR, Elmore C, Krogstad DJ.** The acid-fast stain: a specific and predictive test for mycobacterial disease. *Ann Intern Med 1980*; 92: 512-3.
- [126] **Rickman TW, Moyer NP.** Increased sensitivity of acid-fast smears. *J Clin Microbiol 1980*; 11: 618-20
- [127] **W. Alavera W, K.D. Lesnau KD, Lesnau S.** Extrapulmonary tuberculosis in "tuberculosis-current concepts and treatment. *CRC Press, Boca Raton Ann Arbor London Tokyo 1994*: 113–51.
- [128] **N.C. Klein NC, B. Damsker B, Damsker, Hirschman SZ.** Mycobacterial meningitides: retrospective analysis from 1970 to 1983. *Am. J. Med. 1985*; 79: 29–34.
- [129] **Gérôme. P, Fabre. M, Soler. C. P, De Pina. J.J, Simon. F.** Comparaison du milieu mycobacteria growth indicator tube et des milieux solides pour l'isolement des mycobactéries du complexe tuberculosis à partir d'hémocultures. *Pathologie Biologie 2009*; 57: 44–50.
- [130] **Williams-Bouyer N, Yorke R, Lee HI, Woods GL.** La comparaison des MGIT BACTEC 960 et ESP Culture System II pour la croissance et la détection des mycobactéries. *J Clin Microbiol 2000* ; 38/ 4167-70.
- [131] **Pardini M , Varaine F, Bonnet M, Orefici G, Oggioni MR.** Le Long médicament à l'étude du Groupe, et al. Unsefulness du MGIT BACTEC 960 système d'isolement des *Mycobacterium tuberculosis* à partir de crachats soumis à l'entreposage à long terme. *J Clin Microbiol 2007* ; 45 : 575-6.
- [132] **Morel P, Leconte des Floris MF, Bardiaux L, Pouthier F, Hervé P.** Transfusion sanguine et risque bactérien. *Transfus Clin Biol 2000*; 7: 15-23.
- [133] **Hanna B A, Ebrahimzadeh A, Elliott L B, et al.** Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria. *J Clin Microbiol 1999*; 37: 748–52.
- [134] **Tortoli E, Cichero P, Piersimoni C, et al.** Use of BACTEC MGIT 960 for recovery of mycobacteria from clinical specimens: multicenter study. *J Clin Microbiol 1999*, 37: 3578–82.

- [135] **Williams-Bouyer N, Yorke R, Lee H I, et al.** Comparison of the BACTEC MGIT 960 asd ESP culture system II for growth and detection of mycobacteria. *J Clin Microbiol* **2000**; 38: 4167–70.
- [136] **Idigoras P, Beristain X, Iturzaeta A, et al.** Comparison of the automated nonradiometric BACTEC MGIT 960 system with Lowenstein-Jensen, Coletsos, and Middlebrook 7H11 solid media for recovery of mycobacteria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2000**; 19: 350–4.
- [137] **Alcaide F, Benitez M A, Escriba J M, et al.** Evaluation of the BACTEC MGIT 960 and the MB/Bac T systems for recovery of mycobacteria from clinical specimens and for species identification by DNA AccuProbe. *J Clin Microbiol* **2000**, 38: 398–401.
- [138] **Somoskövi A, Ködmon C, Lantos A et al.** Comparison of recoveries of Mycobacterium tuberculosis using the automated BACTEC MGIT 960 system, the BACTEC 460 TB system, and Löwenstein-Jensen medium. *J. Clin. Microbiol* **2000**; 38: 2395–7.
- [139] **Zanetti S, Ardito F, Sechi L et al.** Evaluation of a non radiometric system (Bactec 9000 MB) for detection of mycobacteria in human clinical sample. *J. Clin. Microbiol* **1997**; 35: 2072–5.
- [140] **Cornfield DB, Glisson K, Bavis J, Agreene J, Bojak M, Bondi J.** Mycobacterial growth and bacterial contamination in the Mycobacteria Growth Indicator Tube and Bactec 460. *J. Clin. Microbiol* **1997**; 35: 2068–3071.
- [141] **Leitritz L, Schubert S, Bücheri B et al.** Evaluation of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460TB Systems for recovery of mycobacteria from clinical specimens of a university hospital with low incidence of tuberculosis. *J. Clin. Microbiol* **2001**; 39: 3764–7.
- [142] **Somoskövi A, Magyar P.** Comparison of the Mycobacteria Growth Indicator Tube with MB Redox, Löwenstein-Jensen, and Middlebrook 7H11 media for recovery of mycobacteria in clinical specimens. *J. Clin. Microbio.* **1999** ; 37: 1366–9.
- [143] **Akcan Y., Tuncer S., Hayran M., Sungur A. and Unal S.** PCR on disseminated tuberculosis in bone marrow and liver biopsy specimens: correlation to histopathological and clinical diagnosis. *Scand. J. Infect. Dis* **1997**; 29: 271-4.
- [144] **Ichiyama S., Iinuma Y., Yamori S., Hasegawa Y., Shimokata K. and Nakashima N.** Mycobacterium growth indicator tube testing in conjunction with the AccuProbe or the AMPLICOR-PCR assay for detecting and identifying mycobacteria from sputum samples. *J. Clin. Microbiol* **1997**; 35: 2022-5.
- [145] **Jou N.T., Yoshimori R.B., Mason G. R., Louie J.S. and Liebling M.R.** Single tube, nested, reverse transcriptase PCR for detection of viable Mycobacterium tuberculosis. *J. Clin. Microbiol* **1997**; 35: 1161-5.

- [146] **Lebrun L., Mathieu D., Saulnier C. and Nordmann P.** Limits of commercial molecular tests for diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Eur. Respir. J* **1997**; 10: 1874-6.
- [147] **Tortoli E., Lavinia F. and Simonetti M.T.** Evaluation of a commercial ligase chain reaction kit (Abbott LCX) for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in pulmonary and extrapulmonary specimens. *J. Clin. Microbiol* **1997**; 35: 2424-6.
- [148] **Kubica GP, Dye WE, Cohn ML, Middlebrook G.** Sputum digestion and decontamination with N-acetyl cystein sodium hydroxyde for culture of Mycobacteria. *Am Rev Resp Dis* **1963**; 87: 775-9.
- [149] **Tamara V. N, Joyce W, Amin K.** Evaluation of sputum decontamination methods for *Mycobacterium tuberculosis* using viable colony counts and flow cytometry. National Reference, Centre for Mycobacteriology, National Microbiology Laboratory, Health Canada, Winnipeg, Manitoba, Canada. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **2003**; 47: 503-9.
- [150] **Lazraq R., Clavel-Sérès S., David H.L. and Roulland-Dussoix D.** Conjugative transfer of a shuttle plasmid from *Escherichia coli* to *Mycobacterium smegmatis*. *FEMS Microbiol. Lett* **1990**; 69: 135-8.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
 - *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
 - *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
 - *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
 - *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*
- 

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

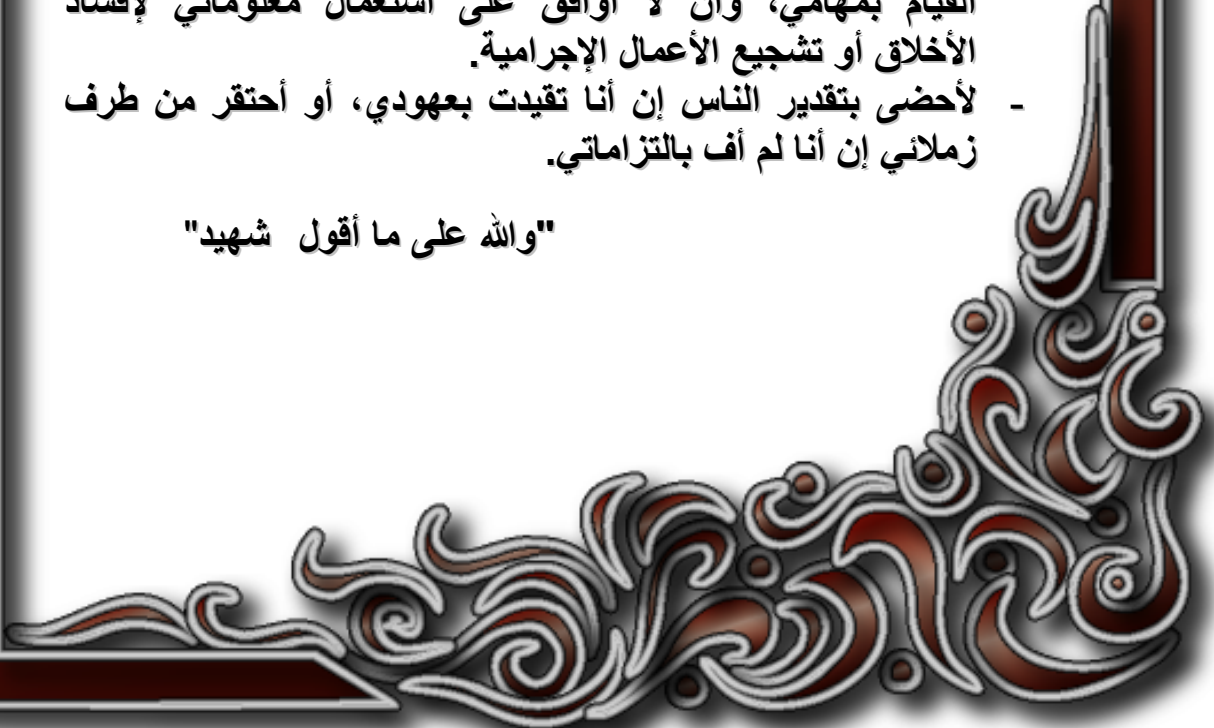
قسم الصيدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَأَحْسِنُ بِاللَّسِّ الْعَظِيمِ

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 13

سنة: 2011

دراسة مقارنة لزراعة المتفطرات على الوسط الصلب و على
الوسط السائل في تشخيص داء السل بالمستشفى
العسكري الدراسي محمد الخامس بالرباط.

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم

من طرف

السيد: عثمان الربيشي

المزاداد في : 6 يناير 1987 بقلعة السراغنة

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: - مقارنة - وسط صلب - وسط سائل - متفطرات - داء السل.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة :

رئيس

السيد: ميمون زهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرف

السيدة: سكيئة الحمزاوي

أستاذة مبرزة في علم الأحياء الدقيقة

أعضاء

السيد: ابراهيم المسترشد

أستاذ في جراحة الدماغ و الاعصاب

السيد: عبد القادر بلمكي

أستاذ مبرز في علم الدم

السيد: إسماعيل عبد الرحمان غرفي

أستاذ مبرز في أمراض الرئة والسل