



ANNEE: 2019

THESE N°: 01

DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA TUBERCULOSE EXTRAPULMONIAIRE PAR PCR

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle. Hafida MOUFID

Née le 07 Février 1988 à Casablanca.

Pour l'Obtention du Diplôme de
Docteur en Pharmacie

MOTS CLES : Tuberculose - Tuberculose extra-pulmonaire - Diagnostic
- Diagnostic moléculaire de la TEP par PCR - PCR IS6110.

JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

Mme. M. CHADLI

Professeur agrégé en Microbiologie

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie et Biochimie clinique

Mme. S. HAMZAOU

Professeur de Microbiologie

Mr. Y. SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

Mme. N. MESSAOUDI

Professeur agrégé d'hématologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGE

JUGE

JUGE

JUGE

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقُلْ اَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ
وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتَرْحَمُونَ اِلَى
عَالَمِ الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُمْ
بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ

صَلَّى
الْحَقِّ
الْعَظِيمِ



MOHAMMED V DE RABAT

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT



DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969	: Professeur 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
2003 - 2013	: Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen

Professeur Mohamed ADNAOUI

Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes

Professeur Brahim LEKEHAL

Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération

Professeur Toufiq DAKKA

Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie

Professeur Jamal TAOUFIK

Secrétaire Général

Mr. Mohamed KARRA

1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

PROFESSEURS :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz

Médecine Interne – **Clinique Royale**

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi

Anesthésie -Réanimation

Pr. SETTAF Abdellatif

Pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENSaid Younes

Pathologie Chirurgicale

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. LACHKAR Hassan

Médecine Interne

Pr. YAHYAOUI Mohamed

Neurologie

Décembre 1989

Pr. ADN AOUI Mohamed

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**

Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. HACHIM Mohammed*

Médecine-Interne

Pr. KHARBACH Aïcha

Gynécologie -Obstétrique

Pr. TAZI Saoud Anas

Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim

Anesthésie Réanimation- **Doyen de FMPO**

Pr. BAYAHIA Rabéa

Néphrologie

Pr. BELKOUCHI Abdelkader

Chirurgie Générale

Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif

Chirurgie Générale

Pr. BENSouda Yahia

Pharmacie galénique

Pr. BERRAHO Amina

Ophtalmologie

Gynécologie Obstétrique **Méd. Chef Maternité des Orangers**

Pr. BEZAD Rachid

Pharmacologie

Pr. CHERRAH Yahia

Histologie Embryologie

Pr. CHOKAIRI Omar

Pédiatrie

Pr. KHATTAB Mohamed

Pharmacologie- **Dir. du Centre National PV Rabat**

Pr. SOULAYMANI Rachida

Pr. TAOUFIK Jamal

Chimie thérapeutique **V.D à la pharmacie+Dir. du CEDOC +**

Directeur du Médicament



Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. EL OUAHABI Abdessamad

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie

Doyen de FMPT

Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques **Doyen de la FMMA**

Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Gynécologie Obstétrique
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale – **Directeur du CHIS-Rabat**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie – Orthopédie
Gynécologie – Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*

Urologie **Directeur Hôpital My Ismail Meknès**

Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. LAKHDAR Amina

Chirurgie – Pédiatrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique



Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TOUFIQ Jallal

Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI

Pr. BOUGTAB Abdesslam

Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie **Inspecteur du Service de Santé des FAR**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Néphrologie
Cardiologie **Directeur Hôp. Mil. d'Instruction Med V Rabat**

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie

Directeur Hôp. Ar-razi Salé

Gynécologie Obstétrique

Neurologie **Doyen de la FMP Abulcassis**

Chirurgie Générale



Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Décembre 2000

Pr.ZOHAIR ABDELLAH *

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa

Oncologie Médicale
Hématologie

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie **Directeur Hôp. My Youssef**
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie - **Directeur Hôp.Cheikh Zaid**
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie
Neurologie

ORL

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie



Pr. DAALI Mustapha*
 Pr. DRISSI Sidi Mourad*
 Pr. EL HIJRI Ahmed
 Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
 Pr. EL MADHI Tarik
 Pr. EL OUNANI Mohamed
 Pr. ETTAIR Said

Chirurgie Générale
 Radiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie - **Directeur Hôp. d'Enfants Rabat**

Pr. GAZZAZ Miloudi*
 Pr. HRORA Abdelmalek
 Pr. KABBAJ Saad
 Pr. KABIRI EL Hassane*
 Pr. LAMRANI Moulay Omar
 Pr. LEKEHAL Brahim
 Pr. MAHASSIN Fattouma*
 Pr. MEDARHRI Jalil
 Pr. MIKDAME Mohammed*
 Pr. MOHSINE Raouf
 Pr. NOUINI Yassine

Neuro-Chirurgie
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Urologie - **Directeur Hôpital Ibn Sina**

Pr. SABBABH Farid
 Pr. SEFIANI Yasser
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 Pr. AMEUR Ahmed *
 Pr. AMRI Rachida
 Pr. AOURARH Aziz*
 Pr. BAMOU Youssef *
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. IKEN Ali

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Urologie

Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 Pr. RHOUE Hakima
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*
 Pr. EL HANCHI ZAKI
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 Pr. HACHI Hafid
 Pr. JABOUIRIK Fatima
 Pr. KHARMAZ Mohamed
 Pr. MOUGHIL Said
 Pr. OUBAAZ Abdelbarre *
 Pr. TARIB Abdelilah*
 Pr. TIJAMI Fouad
 Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
 Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 Pr. ALLALI Fadoua
 Pr. AMAZOUZI Abdellah
 Pr. AZIZ Noureddine*
 Pr. BAHIRI Rachid

Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumo-phtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale



Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Rhumatologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie **Directeur Hôp. Al Ayachi Salé**

Pr. BARKAT Amina
 Pr. BENYASS Aatif
 Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 Pr. EL HAMZAoui Sakina *
 Pr. HAJJI Leila
 Pr. HESSISSEN Leila
 Pr. JIDAL Mohamed*
 Pr. LAAROUSSI Mohamed
 Pr. LYAGOUBI Mohammed
 Pr. RAGALA Abdelhak
 Pr. SBIHI Souad
 Pr. ZERAIDI Najia

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 Pr. AKJOUJ Said*
 Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 Pr. BENCHEIKH Razika
 Pr. BIYI Abdelhamid*
 Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 Pr. DOGHMI Nawal
 Pr. FELLAT Ibtissam
 Pr. FAROUDY Mamoun
 Pr. HARMOUCHE Hicham
 Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
 Pr. JROUNDI Laila
 Pr. KARMOUNI Tariq
 Pr. KILI Amina
 Pr. KISRA Hassan
 Pr. KISRA Mounir
 Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 Pr. MANSOURI Hamid*
 Pr. OUANASS Abderrazzak
 Pr. SAFI Soumaya*
 Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 Pr. SOUALHI Mouna
 Pr. TELLAL Saida*
 Pr. ZAHRAOUI Rachida

Pédiatrie
 Cardiologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie(mise en disponibilité)
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Gynécologie Obstétrique

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



Décembre 2006

Pr SAIR Khalid

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
Pr. AMHAJJI Larbi *
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed *
Pr. BALOUCH Lhoussaine *
Pr. BENZIANE Hamid *
Pr. BOUTIMZINE Nouridine
Pr. CHERKAOUI Naoual *
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
Pr. EL BEKKALI Youssef *
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid *
Pr. ICHOU Mohamed *
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
Pr. LOUZI Lhoussain *
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed *
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRANI Saad *
Pr. OUZZIF Ez zohra *
Pr. RABHI Moncef *
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine *
Pr. SIFAT Hassan *
Pr. TABERKANET Mustafa *
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour *
Pr. TLIGUI Houssain

Chirurgie générale **Dir. Hôp.Av.Marrakech**

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation **Directeur ERSSM**
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie-orthopédie
Parasitologie



Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2008

Cardiologie

Pr TAHIRI My El Hassan*

Chirurgie Générale

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali *

Pr. AGADR Aomar *

Pr. AIT ALI Abdelmounaim *

Pr. AIT BENHADDOU El Hachmia

Pr. AKHADDAR Ali *

Pr. ALLALI Nazik

Pr. AMINE Bouchra

Pr. ARKHA Yassir

Médecine interne

Pédiatrie

Chirurgie Générale

Neurologie

Neuro-chirurgie

Radiologie

Rhumatologie

Neuro-chirurgie *Directeur Hôp.des Spécialités*

Pr. BELYAMANI Lahcen*

Pr. BJIJOU Younes

Pr. BOUHSAIN Sanae *

Pr. BOUI Mohammed *

Anesthésie Réanimation

Anatomie

Biochimie-chimie

Dermatologie

Pr. BOUNAIM Ahmed *

Pr. BOUSSOUGA Mostapha *

Pr. CHTATA Hassan Toufik *

Pr. DOGHMI Kamal *

Pr. EL MALKI Hadj Omar

Pr. EL OUENNASS Mostapha*

Pr. ENNIBI Khalid *

Pr. FATHI Khalid

Pr. HASSIKOU Hasna *

Pr. KABBAJ Nawal

Pr. KABIRI Meryem

Pr. KARBOUBI Lamya

Pr. LAMSAOURI Jamal *

Pr. MARMADE Lahcen

Pr. MESKINI Toufik

Pr. MESSAOUDI Nezha *

Pr. MSSROURI Rahal

Pr. NASSAR Ittimade

Pr. OUKERRAJ Latifa

Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

Chirurgie Générale

Traumatologie-orthopédie

Chirurgie Vasculaire Périphérique

Hématologie clinique

Chirurgie Générale

Microbiologie

Médecine interne

Gynécologie obstétrique

Rhumatologie

Gastro-entérologie

Pédiatrie

Pédiatrie

Chimie Thérapeutique

Chirurgie Cardio-vasculaire

Pédiatrie

Hématologie biologique

Chirurgie Générale

Radiologie

Cardiologie

Pneumo-Phtisiologie

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha

Anesthésie réanimation



Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

Décembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed

Pr. ABOUELALAA Khalil *
 Pr. BENCHEBBA Driss *
 Pr. DRISSI Mohamed *
 Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
 Pr. EL KHATTABI Abdessadek *
 Pr. EL OUAZZANI Hanane *
 Pr. ER-RAJI Mounir
 Pr. JAHID Ahmed
 Pr. MEHSSANI Jamal *
 Pr. RAISSOUNI Maha *

** Enseignants Militaires*

Février 2013

Pr. AHID Samir
 Pr. AIT EL CADI Mina
 Pr. AMRANI HANCHI Laila
 Pr. AMOR Mourad
 Pr. AWAB Almahdi
 Pr. BELAYACHI Jihane
 Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain

Médecine Interne
 Physiologie
 Microbiologie
 Médecine Aéronautique
 Biochimie- Chimie
 Radiologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Plastique et Réparatrice
 Urologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Hématologie
 Anatomie Pathologique

Anatomie Pathologique

Chirurgie pédiatrique

Anesthésie Réanimation
 Traumatologie-orthopédie
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Médecine Interne
 Pneumophthysiologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Cardiologie

Pharmacologie
 Toxicologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Réanimation Médicale
 Anesthésie Réanimation

Pr.BENCHEKROUN Laila
 Pr.BENKIRANE Souad
 Pr.BENNANA Ahmed*
 Pr.BENSGHIR Mustapha *
 Pr.BENYAHIA Mohammed *
 Pr.BOUATIA Mustapha
 Pr.BOUABID Ahmed Salim*
 Pr BOUTARBOUCH Mahjouba
 Pr.CHAIB Ali *
 Pr.DENDANE Tarek
 Pr.DINI Nouzha *
 Pr.ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
 Pr.ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
 Pr.EL FATEMI NIZARE
 Pr.EL GUERROUJ Hasnae
 Pr.EL HARTI Jaouad
 Pr.EL JAOUDI Rachid *
 Pr.EL KABABRI Maria
 Pr.EL KHANNOUSSI Basma
 Pr.EL KHLOUFI Samir
 Pr.EL KORAICHI Alae
 Pr.EN-NOUALI Hassane *
 Pr.ERRGUIG Laila
 Pr.FIKRI Meryem
 Pr.GHFIR Imade
 Pr.IMANE Zineb
 Pr.IRAQI Hind
 Pr.KABBAJ Hakima
 Pr.KADIRI Mohamed *
 Pr.MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr.MEDDAH Bouchra
 Pr.MELHAOUY Adyl
 Pr.MRABTI Hind
 Pr.NEJJARI Rachid
 Pr.OUBEJJA Houda
 Pr.OUKABLI Mohamed *
 Pr.RAHALI Younes
 Pr.RATBI Ilham
 Pr.RAHMANI Mounia
 Pr.REDA Karim *
 Pr.REGRAGUI Wafa
 Pr.RKAIN Hanan
 Pr.ROSTOM Samira

Biochimie-Chimie
 Hématologie
 Informatique Pharmaceutique
 Anesthésie Réanimation
 Néphrologie
 Chimie Analytique et Bromatologie
 Traumatologie orthopédie
 Anatomie
 Cardiologie
 Réanimation Médicale
 Pédiatrie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Neuro-chirurgie
 Médecine Nucléaire
 Chimie Thérapeutique
 Toxicologie
 Pédiatrie
 Anatomie Pathologique
 Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie



Pr.ROUAS Lamiaa
Pr.ROUIBAA Fedoua *
Pr.SALIHOUN Mouna
Pr.SAYAH Rochde
Pr.SEDDIK Hassan *
Pr.ZERHOUNI Hicham
Pr.ZINE Ali*

AVRIL 2013

Pr.EL KHATIB MOHAMED KARIM *

MAI 2013

Pr.BOUSLIMAN Yassir

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah
Pr.BENCHAKROUN Mohammed *
Pr.BOUCHIKH Mohammed
Pr. EL KABBAJ Driss *
Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira *
Pr. HARDIZI Houyam
Pr. HASSANI Amale *
Pr. HERRAK Laila
Pr. JANANE Abdellah *
Pr. JEAIDI Anass *
Pr. KOUACH Jaouad*
Pr. LEMNOUER Abdelhay*
Pr. MAKRAM Sanaa *
Pr. OULAHYANE Rachid*
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar
Pr. SABRY Mohamed*
Pr. SEKKACH Youssef*
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

AVRIL 2014

Pr.ZALAGH Mohammed

PROFESSEURS AGREGES :

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKASSEM Rachid*
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila
Pr. BEKKALI Hicham *
Pr. BENAZZOU Salma
Pr. BOUABDELLAH Mounya

Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

Toxicologie

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie

Histologie- Embryologie-Cytogénétique

Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Génycologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Cardiologie
Médecine Interne
Génécologie-Obstétrique



ORL

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie

Pr. BOUCHRIK Mourad*
 Pr. DERRAJI Soufiane*
 Pr. DOBLALI Taoufik*
 Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali
 Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*
 Pr. EL MARJANY Mohammed*
 Pr. FEJJAL Nawfal
 Pr. JAHIDI Mohamed*
 Pr. LAKHAL Zouhair*
 Pr. OUDGHIRI NEZHA
 Pr. RAMI Mohamed
 Pr. SABIR Maria
 Pr. SBAI IDRISSE Karim*

AOUT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
 Pr. TAHRI Latifa

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
 Pr. EL ASRI Fouad*
 Pr. ERRAMI Noureddine*
 Pr. NITASSI Sophia

JUIN 2017

Pr. ABI Rachid*
 Pr. ASFALOU Ilyasse*
 Pr. BOUAYTI El Arbi*
 Pr. BOUTAYEB Saber
 Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
 Pr. OURAINI Saloua*
 Pr. RAZINE Rachid
 Pr. ZRARA Abdelhamid*

* *Enseignants Militaires*

Parasitologie
 Pharmacie Clinique
 Microbiologie
 Anatomie
 Anesthésie-Réanimation
 Radiothérapie
 Chirurgie Réparatrice et Plastique
 O.R.L
 Cardiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Pédiatrique
 Psychiatrie
 Médecine préventive, santé publique et Hyg.

Dermatologie
 Rhumatologie

Chirurgie Générale
 Ophtalmologie
 O.R.L
 O.R.L

Microbiologie
 Cardiologie
 Médecine préventive, santé publique et Hyg.
 Oncologie Médicale
 Oncologie Médicale
 O.R.L
 Médecine préventive, santé publique et Hyg.
 Immunologie



2 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS/Prs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie-chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr .BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbès	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRIS Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie



Mise à jour le 10/10/2018

Khaled Abdellah

Chef du Service des Ressources Humaines

« Donnez-moi un laboratoire et je soulèverai le monde »

Louis Pasteur



« Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur; elles Sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries »

Marcel Proust.



Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude que

Je dédie cette thèse à...

*À la mémoire de mon défunt père, **Mouhamed***

Qu'Allah l'accepte dans sa grâce.

À la plus belle créature que dieu a créé sur terre

À cette source de tendresse, de patience et de générosité

Sans elle, ce travail n'aurait jamais abouti. ;

À ma Mère, Fatima

À mon chère frère Khalid, et sa chère femme Lamiaa,

Pour leur soutien moral et physique inconditionnel durant

Le long de ce parcours.

À mes chères oncles Mouhamed et Ahmed

Qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance,

De courage et de générosité.

À mon chère fiancé Ismail Sabbar

Pour sa patience, son encouragement et sa générosité

Aucun mot n'égale leurs sacrifices durant ces longues années d'études.



A la mémoire de mes chers grands-parents : Bilal et Fatima

Puisse Dieu tout puissant vous accorder sa clémence

Sa miséricorde et vous accueillir dans son saint paradis.

A toutes mes très chères tantes et leurs enfants filles et garçons

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon attachement

Et ma grande considération aux liens qui nous unissent.

A tous mes cousins et mes cousines

A tous les membres de la grande famille

Ce travail est le vôtre. Il est le fruit des liens sacrés qui nous unissent.

Retrouvez ici l'expression de mes sentiments les plus sincères



A ma grande famille

*Merci à tous ceux et celles qui ont confiance en moi et qui m'ont donnés le courage
et le soutien pour avancer et s'améliorer dans ma vie sociale, scolaire, universitaire
et professionnelle,*

*En commençant par ma mère et mon frère et en finissant par les tout petits
membres de la famille.*

*Famille **MOUFID**, Famille **NABIL**, Famille **SABBAR**, Famille **YOTI**, Famille
EL GHLIMI, Famille **EL GHANATI**, Famille **RAHLI**, Famille **BENCHARKI**,
Famille **EL ALAMI**, Famille **MIRAOUI***



À tous mes amis et collègues

*Chahida NOUAMANI, Asmaa GHINI, Kaoutar OUARAK, Fayza NQUILA,
Samira RABI, Rajaa HABTI, Rajae HAKKACH, Hasnaa LAZ, ...*

En témoignage de l'amitié qui nous uni 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 tous ceux qui, par un mot, m'ont donnée la force de continuer ...





*AU NOM DE DIEU, LE CLÉMENT,
LE MISÉRICORDIEUX*

*Louange à Dieu, Seigneur des mondes, et que sa grâce et sa paix soient sur son
messenger ainsi que sur sa famille, ses compagnons et Ceux qui les suivent
vertueusement jusqu'au jour de la résurrection.*

*Louange à Dieu, je ne cesserai de le répéter, qui nous a fait partie des musulmans et
de la oummaḥ de Mouhammad (paix et salut de Dieu Sur lui). Que ce travail serve
à sa cause.*

AMEN.



À la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat« FMPR »

À Monsieur le doyen, le Professeur Mohamed ADNAOUI,

*Vous nous faites l'honneur de diriger cette faculté de médecine et de pharmacie de
Rabat,*

À notre vice doyen, professeur Jamal TAOUFIK,

Et notre professeur honorable de chimie thérapeutique,

À notre secrétaire général, monsieur Mohamed KARRA

À notre responsable de la bibliothèque, professeur Ahmed ZAHIDI



*A nôtres maitres président du jury, directrice de thèse, et
membres Des jurés*

À Monsieur le Président du jury, Pr. Mimoun ZOUIDI

*Professeur de microbiologie à la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat et
chef de service de microbiologie au CHU Ibn sina de Rabat.*

*Vous nous faites l'honneur de présider cette thèse, Merci monsieur pour votre
gentillesse et votre accueil chaleureux, et pour vos efforts considérables en faveur
de la science et de la santé, acceptez notre profonde et respectueuse reconnaissance.*

À notre directrice de thèse, Pr. Mariama CHADLI,

Professeur de microbiologie à la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat

*Nous vous devons reconnaissance éternelle pour la patience, la disponibilité, la
gentillesse et la bienveillance dont vous avez fait preuve pendant la longue
préparation et rédaction de cette thèse.*

*Merci de m'avoir appris le sens de ponctualité et de responsabilité. Je n'oublie pas
enfin votre aide précieuse dans la relecture et la correction de ma thèse. Merci
infiniment.*



À notre maître et juge de thèse Pr. Saida TELLAL

Professeur de biochimie à la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat

*Nous tenons à vous remercier d'avoir accepté de lire notre travail, et aussi
d'accepter d'être un membre de notre jury honorable, vos remarques nous seront
utiles. Avec tous mes respects.*



À notre maître et juge de thèse Pr. Yassine SEKHSOKH

Professeur agrégé en microbiologie

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de participer à l'achèvement de ce travail, par vos remarques considérables, veuillez monsieur accepter mes respects distinguer et merci pour vos efforts.



À notre maître et juge de thèse Pr. Sakina HAMZAOUI

Professeur de microbiologie à la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat

Nous sommes sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de participer au jury de notre thèse, Merci d'avoir lu notre travail, vos remarques nous seront utiles. Avec tous mes respects.



À notre maître et juge de thèse Pr. Nezha MESSAOUDI

*Professeur d'hématologie biologique à la faculté de médecine et de pharmacie de
Rabat*

*Vous avez accepté de siéger dans notre jury. Nous sommes sensibles à l'intérêt que
vous avez porté à notre travail. Merci d'avoir lu notre travail, vos remarques nous
seront utiles. Soyez assurés de notre respectueuse considération.*



À l'institut Pasteur du Maroc « IPM » et ses équipes

*À notre directrice de l'institut pasteur du Maroc, madame Naima EL
MDAGHRI*

*Pour nous accueillir au sein de votre laboratoire d'analyse, et de donner un coup de
main aux jeunes scientifiques et doctorants*

*À notre codirecteur de thèse, Docteur Moulay driss
EL MASSOUDI,*

*Nous vous remercions du temps que vous avez passé à relire nos travaux
préliminaires, de l'aide et de la disponibilité dont vous avez fait preuve pendant le
recueil des données.*



À nôtres médecins biologiste, monsieur Abderahman BELLIK,

Merci de nous avoir fait découvrir et apprécier la médecine, et d'avoir toujours été là depuis, pour donner le conseil avisé ou le petit coup de pouce salvateur.

*À madame Malika EL MASSOUDI, monsieur Abdelmajid LAMAAMAL,
monsieur Fouad CHETIOVI*

Laboratoire de la Tuberculose, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca

*Toujours présents pour nous conseiller, nous guider, sans jamais perdre patience, et
Nous vous en remercions infiniment.*

Au doctorant et stagiaires, Ghizlane MOUMEN et Zineb

Merci d'avoir nous aider avec sincérité, patience, et amicalement.

À tous les membres du laboratoire sans exception



*Au centre nationale de l'énergie et des sciences et techniques
nucléaires (Maroc) « CNESTEN » et ses équipes*

A la direction générale

*Pour nous accueillir au centre national de l'énergie et sciences techniques et
nucléaire*

À docteur Imane CHAOUI

*Unité de Biologie et Recherches Médicales, Centre National de l'Energie, des
Sciences et Techniques Nucléaires, Merci de nous avoir fait découvrir et apprécier la
chimie et plus précisément la biologie moléculaire*



*LISTE
DES ILLUSTRATIONS*

Liste des abréviations

ADA : adénosine désaminase	LCR : liquide céphalo-rachidien
ADN : acide désoxyribonucléique	LJ : Lowenstein Jensen
ADNr : acide désoxyribonucléique ribosomale	M : mycobactrium
BAAR : bacille acido-alcoolrésistante	M+ , M- : examen microscopique positif, examen microscopique négatif
BCG : bacille de Calmette et Guérin	MB : mega base
BK : bacille de koch	MCT : mycobactérie de complexe tuberculosis
C : base cytosine	MDR : tuberculose multi résistante
C+ , C- : culture positive, culture négative	MGIT : mycobacteria growth indicator tube
CD : cluster différenciation	MYITS : espace inter-génique de la mycobactérie
CRP : c-réactive protéine	NCBI : national center for biotechnologie information
DR : séquence répétée directe	OMS : organisation mondiale de santé
E/EB : éthambutol	ORL : oto-rhino-laryngé
EDTA : éthylènediaminetétraacétique	P/Z : pyrazinamide
G : base guanine	PCR : réaction en chaine par polymérase
H/I : isoniaside	PCR-RT : réaction en chaine par polymérase en temps réel
HLA : human leukocyte antigen	PGRS : séquence polymorphe répétée riche en guanine et cytosine
IDR : inter-dermo-réaction	PIT : primo-infection à tuberculose
IGRA : interferon Gamma Release Assay (test de libération d'interféron gamma)	PNALT : programme national de lutte antituberculeuse
IL : interleukine	R : rifampicine
INF : interferon	
IR : séquence répétée inverse	
IS : séquence d'insertion	
ITL/ITBL : infection tuberculeuse latente	
LAM : lipoarabinomannane	

S : streptomycine	TPM+ : tuberculose pulmonaire à microscopie positive
TB : tuberculose	TPM0 : tuberculose pulmonaire à microscopie négative
Th : lymphocyte T helper	UV : ultraviolet
TBE : tuberculose extra-pulmonaire	VIH : Virus d'immunodéficience humaine
TDR : tuberculose totalement résistante	WHO : World health organization
TEP : tuberculose extra-pulmonaire	XDR : Tuberculose extra résistante
TG : tuberculose ganglionnaire	
TM : tuberculose malade	
TNF : tumor necrosis factor	

Liste des figures

Figure 1: Robert Koch dans ses plus vieux jours. La photo a été reproduite grâce à l'autorisation de la Collection de Portraits de la Bibliothèque Universitaire de l'Université de Humboldt, Berlin, Allemagne .	7
Figure 2: Schéma montrant l'enveloppe de <i>M.Tuberculosis</i>	10
Figure 3: Taux d'incidence de la tuberculose dans le monde en 2012	13
Figure 4: Nouveaux cas de tuberculose déclarés, Maroc 2009.	15
Figure 5: Transmission aérienne du bacille tuberculeux lors de l'émission de gouttelettes de Flügge par un malade tuberculeux bacillifère.	16
Figure 6: La tuberculose dans le monde en 2009	18
Figure 7: Histoire naturelle de la tuberculose.	19
Figure 8: Localisations de la tuberculose pulmonaire et extra-pulmonaire.	20
Figure 9: Principales interactions entre macrophages et lymphocytes	23
Figure 10: Adénopathie tuberculeuse.	28
Figure 11: Radiographie du thorax	29
Figure 12: Patient avec une tuberculose rénale unilatérale	30
Figure 13: Mal de pott	32
Figure 14: Tuberculeuse osseuse	32
Figure 15: Méningite tuberculeuse	33
Figure 16: Tuberculose abdominale	34
Figure 17: Tuberculose intestinal	34
Figure 18: Tuberculose cutanée	35
Figure 19: Cœur et péricarde.	36

Figure 20: Péricardite tuberculeuse	36
Figure 21: Tuberculose oculaire	37
Figure 22: Technique d'injection intradermique	41
Figure 23: Technique d'injection intradermique	41
Figure 24: Technique d'interprétation d'une intradermoréaction à la tuberculine	41
Figure 25: Flacon stérile	42
Figure 26: Examen direct : cette photomicrographie montre des bacilles de <i>M. tuberculosis</i> repérés par la méthode de coloration de ziehl-Nelson (grossissement 1000*).....	47
Figure 27: Culture de <i>mycobacterium tuberculosis</i> : colonie en 'chou-fleur'	48
Figure 28: Schéma du traitement curatif des différents cas de la tuberculose (Bencheikh et al 1996)	58

Liste des tableaux

Tableau I: Les cinq premiers pays en termes de nombre Total de cas incidents en 2009	12
Tableau II: Tuberculose dans le monde (2003)	13
Tableau III: Interactions médicamenteuses des antituberculeux [50]	60
Tableau IV: Amorces Utilisées et leurs caractéristiques.	72
Tableau V: Composition du mélange réactionnel	72
Tableau VI: Répartition selon le sexe.....	76
Tableau VII: Répartition selon les tranches d'âge	77
Tableau VIII: Répartition de la maladie selon la localisation	78
Tableau IX: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose ganglionnaire	80
Tableau X: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose pleural	81
Tableau XI: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose rénale	82
Tableau XII: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose osteo-articulaire	83
Tableau XIII: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose digestive.....	84
Tableau XIV: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose cutanée	85
Tableau XV : Répartition selon les tranches d'âge	94



INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE	4
RAPPELS	4
I. Généralités sur la tuberculose	7
1. Historique et expérience de Robert Koch.....	7
2. Epidémiologie	8
3. Physiopathologie et Tuberculo-immunité	15
3.1 Mode de contamination	15
3.2 Histoire naturelle de la tuberculose.....	17
3.3 Tuberculose pulmonaire	20
3.4 Tuberculose extra-pulmonaire	20
4. Pathogénie.....	21
II. Tuberculose extra-pulmonaire	25
1. Définition	25
2. Clinique.....	26
2.1 Facteurs favorisants.....	26
2.2 Signes généraux	27
2.3 Signes cliniques respiratoires	27
2.4 Signes cliniques extra-respiratoires.....	28
2.4.1 Tuberculose ganglionnaire	28
2.4.2 Tuberculose pleurale	28
2.4.3 Tuberculose urogénitale	30
2.4.4 Tuberculose ostéo-articulaire	30
2.4.5 Tuberculose neuro-méningée	32
2.4.6 Tuberculose digestive	33
2.4.7 Tuberculose cutanée	35

2.4.8 Tuberculose péricardique	35
2.4.9 Formes Multifocales	36
2.4.10 Tuberculose oculaire	37
2.4.11 Autres formes rares	37
2.5 Signes fonctionnels	38
2.6 Examen physique	38
3. Para-clinique	39
3.1 Les différentes méthodes de diagnostic.....	39
3.1.1 Recherche de l'allergie tuberculinique (IDR).....	39
3.1.2 Diagnostic biologique	42
3.1.3 Imagerie.....	53
3.1.4 Diagnostic sérologique	53
3.1.5 Diagnostic histologique.....	53
3.2 Diagnostic différentiel.....	54
III. Traitement	55
1. Traitement curatif	55
1.1 Bilan pré-thérapeutique	55
1.2 But thérapeutique	55
1.3 Moyens thérapeutiques.....	56
1.3.1 Les antituberculeux	56
1.3.2 Moyens adjuvants	61
1.4 Conduite du traitement	61
1.5 Les pathologies associées	62
1.5.1 VIH (virus d'immunodéficience humaine).....	62
1.5.2 Malade ayant une insuffisance hépatique	62
1.5.3 Malade ayant une insuffisance rénale	62
1.5.4 Malade ayant un diabète	62
1.6 Surveillance thérapeutique	62
2. Traitement préventif	63

2.1 La vaccination par le BCG	63
2.2 Le dépistage et le traitement des sujets contact	64
2.3 Chimio prophylaxie	64
2.4 L'amélioration du niveau de vie	65
DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE	66
MATERIELS ET METHODES	67
I. Matériels et méthodes étudiées.....	68
1. Cadre d'étude	68
2. Type d'étude.....	68
3. Contraintes	69
4. Collecte de données.....	69
5. Exploitation des données et analyses statistiques	69
6. Critères d'exclusion.....	69
7. Les patients	70
8. Les échantillons.....	70
9. Méthodes.....	70
9.1 Méthode de diagnostic classique par microscopie et culture sur un milieu solide .	70
9.2 Diagnostic de la tuberculose extra pulmonaire parPCR.....	71
RESULTATS.....	75
I. Résultats globaux.....	76
1. Epidémiologie	76
2. Aspects cliniques	78
3. Comparaison générale des résultats entre la méthode classique (culture) et moléculaire conventionnelle (PCR)	79

4. Comparaison des résultats entre la méthode classique (culture) et moléculaire conventionnelle (PCR) selon le type de la localisation.....	80
DISCUSSION	92
CONCLUSION.....	100
RESUMES	102
ANNEXES	106
BIBLIOGRAPHIE	109



INTRODUCTION



La tuberculose est la plus fréquente maladie infectieuse, c'est la plus grave et la plus meurtrière dans le monde. Elle présente un problème de santé publique majeur, avec près de 8 millions de nouveaux cas chaque année et plus de 1 million de décès par an selon l'OMS. Une maladie que les pays industrialisés et les pays en développement négligent depuis plusieurs dizaines d'années.

La tuberculose est parmi les plus importantes des maladies qui entravent le développement socio-économique, et l'origine de grandes souffrances pour l'individu qui en est atteint et pour sa famille, elle atteint tous les âges, ce sont les jeunes adultes qui payent la plus lourde tribu.

Il s'agit d'une infection bactérienne due au *Mycobacterium tuberculosis* dont la forme pulmonaire est la plus fréquente. À l'échelle mondiale, en 2012, l'OMS rapporte, parmi tous les cas de tuberculose, 14% de tuberculose extra pulmonaire (TBE) sans atteinte pulmonaire concomitante. Alors que la majorité des tuberculoses actives touchent le système respiratoire, plusieurs études rapportent une augmentation récente de l'incidence des TBE.

« Au Maroc, malgré les efforts importants déployés pour prévenir, contrôler et maîtriser la tuberculose, qui fait toujours partie des principales priorités du Ministère de la Santé, sa fréquence demeure élevée avec 27.000 à 28.000 nouveaux cas dépistés annuellement » [28].

La coinfection avec le VIH, l'émergence de formes de tuberculose multi résistantes (MDR), puis ultrarésistante (XDR) et totalement résistantes (TDR) ne fait que compliquer encore plus la situation, rendant la prise en charge des patients beaucoup plus difficile et la nécessité d'un diagnostic sensible et rapide encore plus urgente.

Notre étude prospective sur 124 cas atteints de tuberculose extra-pulmonaire au sein de l'institut Pasteur du Maroc, se fixe pour objectif, de déterminer l'intérêt du diagnostic moléculaire (la PCR) de la tuberculose extra pulmonaire par rapport au test biologique classique (la culture sur milieu solide lowenstein jensen (Lj)).

Pour atteindre cet objectif, notre travail comportera trois volets :

- ✓ d'abord des rappels sur la tuberculose;
- ✓ ensuite, des résultats du travail pratiques,
- ✓ Enfin, une dernière partie consacrée à la conclusion.



Sous le terme « Mycobactérioses » sont regroupées des infections de l'Homme et des animaux provoqués par les mycobactéries [3].

Étymologiquement, le terme *Mycobacterium* provient de deux racines empruntées au Grec « Myces » pour champignon et « bakterion » petit bâton. En fait, ces bactéries n'ont en commun avec les champignons que leur seule aptitude à se développer en s'étalant à la surface des milieux liquides [3].

Les mycobactéries appartiennent à l'ordre des Actinomycétales où la famille des Mycobactériacées ne comporte qu'un seul genre *Mycobacterium*. Caractérisés par une propriété tinctoriale essentielle : ce sont des bacilles acido-Alcool-résistants (BAAR) [3].

Le genre *mycobacterium* peut être subdivisé en trois groupes : les mycobactéries du «complexe *Mycobactérium tuberculosis*» (*M. tuberculosis*, *M. bovis* et BCG, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*) [3], responsables de la tuberculose des mammifères, les mycobactéries atypiques, qui sont saprophytes ou commensales des animaux et *M. leprae* responsable de la lèpre de l'Homme et du rat. Cette classification est réalisée selon 3 critères :

- ✓ Le temps de croissance, croissance lente >7 jours ou croissance rapide <7 jours ;
- ✓ La pathogénicité, pathogènes stricts de l'homme ou des animaux, espèces saprophytes ou commensales, pathogènes opportunistes ou non pathogènes ;
- ✓ La maladie qu'elles entraînent, tuberculose (TB), lèpre ou mycobactérioses.

Les mycobactéries possèdent trois caractéristiques essentielles (Shinnick and Good 1994) :

- ✓ L'acido-alcool-résistance: cette propriété est due à la richesse de leur paroi en lipides spécifiques, les acides mycoliques qui les rend les plus épaisses du monde bactérien (9-10 nm) » [34] et imperméables aux colorants usuels mais qui fixe intensément les colorants alcalins comme la fushine basique et s'oppose à leur décoloration après un traitement conjoint par l'acide et l'alcool. Toutes les mycobactéries sont des BAAR, mais toutes les bactéries acido-résistantes ne sont pas des mycobactéries. En effet, les *Nocardia*, quelques actinomycètes, quelques corynebactéries, sont faiblement acido-résistantes.

- ✓ La nature des acides mycoliques: les acides mycoliques sont les acides gras les plus longs synthétisés dans la nature (Niederweis 2003). Les genres *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Gordona* et *Tsukamurella* ont tous des acides gras α -ramifiés β -hydroxylés : les acides mycoliques. Ceci explique que les germes correspondant peuvent être colorés par la coloration de Ziehl-Neelsen. Le genre *Mycobacterium* se différencie des autres par le haut poids moléculaire de ses acides mycoliques (chaînes de 60 à 90 atomes de carbone, contre 30 à 60 atomes de carbone pour *Rhodococcus* et *Nocardia* et de 20 à 30 pour les corynébactéries).
- ✓ Un contenu élevé en unité G+C de leur ADN : le pourcentage en G+C de l'ADN des mycobactéries est élevé : 61% à 71%, excepté pour *Mycobacterium leprae* (55%) (Andersson and Sharp 1996) » [34].

Dans notre étude les mycobactéries qui nous intéressent sont des mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* «*M. tuberculosis*» (Bacille de koch).

I. Généralités sur la tuberculose

Définition

La tuberculose est une infection bactérienne due à « *mycobactérium tuberculosis* » pouvant toucher de nombreux organes. Elle est en recrudescence depuis une quinzaine d'années (environ 8 millions de nouveaux cas par an dans le monde).

L'homme est le seul réservoir du germe et représente le principal agent de transmission de la bactérie.

1. Historique et expérience de Robert Koch



Figure 1: Robert Koch dans ses plus vieux jours. La photo a été reproduite grâce à l'autorisation de la Collection de Portraits de la Bibliothèque Universitaire de l'Université de Humboldt, Berlin, Allemagne [14].

La tuberculose a été isolée des autres maladies pulmonaires par Laennec en 1819, par la suite le médecin allemand Schonlein donne à la maladie son nom définitif en 1839, réunissant en une description unifiée ses manifestations cliniques [47].

En 1865, le médecin Jean-Antoine Villemin prouve par la méthode expérimentale, la transmission de la tuberculose et affirme en conséquence que cette maladie, de nature jusqu'alors inconnue, est due à un microbe invisible avec les moyens techniques de l'époque. On peut donc s'en protéger par des mesures visant à éviter la contagion. Enfin, à la suite des travaux de Pasteur, c'est un médecin allemand, Robert Koch, qui découvre le bacille, en 1882 [47].

Qui était ce grand homme ? Né en 1843, en Allemagne dans une famille pauvre de mineurs, Robert Koch a étonné ses parents à l'âge de 5 ans en leur annonçant que grâce à des journaux, il avait appris à lire par lui-même, ce qui permettait de prédire l'intelligence et la persévérance qui le caractériserait pendant le reste de sa vie. Il a obtenu le titre de docteur en médecine, a travaillé ensuite comme agent médical de district, a été nommé professeur d'hygiène et 20 ans plus tard, en 1905, a reçu le Prix Nobel de physiologie et de médecine, un honneur exaltant. En 1910, à l'âge de 66 ans son grand cœur l'a abandonné et il est décédé à Baden-Baden, Allemagne. Nous nous souvenons de lui, car il a été sans aucun doute le père d'une nouvelle génération de chercheurs connus comme les « chasseurs de microbes ». Koch a découvert la cause de l'anthrax, de la tuberculose (TB) et du choléra et les postulats de Koch concernant la démonstration de l'étiologie d'une maladie causée par un microbe déterminé sont toujours enseignés à ce jour à toute nouvelle génération d'étudiants en médecine [14].

2. Epidémiologie

Généralités

La tuberculose est une maladie contagieuse et la contamination interhumaine s'effectue donc par voie aérienne. L'infection tuberculeuse survient chez les sujets qui ont inhalé des bacilles tuberculeux, une fraction seulement des sujets infectés développent une maladie tuberculeuse (tuberculose). Aux indicateurs épidémiologiques usuels (incidence, morbidité, mortalité), l'épidémiologie de la tuberculose fait appel au risque annuel d'infection calculé par la formule $1-(1-p)^{1/a}$ où « p » est la prévalence d'une réaction positive dans la population et « a » est l'âge moyen de la population ; il s'agit en fait du risque, dans une tranche d'âge donnée et au cours d'une année, de survenue d'une primo-infection tuberculeuse. Un risque annuel d'infection de 1 % correspond à une incidence annuelle de l'infection tuberculeuse de 100/100 000. La probabilité d'avoir été infecté par le bacille tuberculeux est évaluée par le test de Mantoux, s'il n'y a pas eu de vaccination par le BCG antérieurement et/ou d'infection par une mycobactérie non tuberculeuse ayant généré une allergie à la tuberculine. Les organismes qui appartiennent à l'espèce des mycobactéries tuberculeuses ont des séquences nucléotidiques dont le polymorphisme de position est caractéristique d'une souche et reste stable pour une même souche; après purification, l'étude du polymorphisme de restriction du matériel

génétique mycobactérien (restriction fragment length polymorphism ou RFLP) permet de déterminer à partir de différents prélèvements provenant de malades différents si les souches ont la même origine ou si elles ont une origine différente. Cette technique des empreintes génomiques (finger printing) a ouvert l'ère de l'épidémiologie moléculaire et a permis d'étudier en détail les modalités de transmission du bacille tuberculeux.

Description du bacille de koch (bacille tuberculeux) et génome

La tuberculose est une maladie infectieuse due à une mycobactérie, bacille acido-alcool-résistant, aérobic strict, plus spécifiquement au «complexe *Mycobacterium tuberculosis*».

Dans les régions d'élevage, les bovidés peuvent être infectés par une autre variété, *Mycobacterium bovis*, transmissible à l'homme [1].

M. tuberculosis est une bactérie en forme de bâtonnet (bacille), immobile de 2 à 5 µm de long, non sporulé, très sensible à la chaleur et à la lumière solaire ; il résiste au froid et à la dessiccation et survie jusqu'à plusieurs années à l'état desséché. La coloration de Ziehl-Neelsen est spécifique de toutes les mycobactéries: sous l'action de la fuschine chaude, le bacille se colore en rouge et n'est décoloré ni par l'acide nitrique, ni par l'alcool (bacille acido-alcool-résistant, BAAR).

Son temps de division est en moyenne de 20 heures, les cultures sur milieu solide ne sont positives qu'après 21 à 28 jours d'incubation à 37°C, et après un délai un peu plus court (10 à 15 jours) lorsqu'on utilise un milieu liquide. Sur les milieux contenant de l'œuf, les colonies sont de couleur crème-beige, sèches, rugueuses, en « chou-fleur ». L'étude des caractères biochimiques n'est habituellement pas nécessaire pour identifier le BK. La culture ne peut être considérée comme négative qu'à la fin du deuxième mois.

➤ Enveloppe de *M.Tuberculosis* [34]:

L'enveloppe cellulaire de *M.Tuberculosis* est constituée de trois composants structuraux (Daffe and Etienne 1999) :

- o Une membrane plasmique typique, Elle ne joue pas de rôle dans la pathogénicité de la bactérie ;

- o La paroi, qui possède les caractéristiques des bactéries à Gram négatif (Fu and Fu-Liu 2002). Elle est composée de peptidoglycane (motif de base : polymère de N-acétylglucosamine- β 1-4-acide N-glycolylmuramique) relié de manière covalente à un hétéroside, l'arabinogalactane, qui est lui-même estérifié par des acides mycoliques. C'est la paroi qui confère aux mycobactéries la résistance à la plupart des antibiotiques et des désinfectants, ainsi qu'une résistance à l'action des bases et des acides (Brennan and Nikaido 1995; Alderwick, Birch et al. 2007; Zuber, Chami et al. 2008) ;
- o Une capsule : un mélange de polysaccharides, protéines et lipides (Sani, Houben et al. 2010). Chez les espèces pathogènes, la présence de certains glycanes dans la capsule est fondamentale pour l'interaction avec le macrophage et pour inhiber la réponse pro-inflammatoire. La capsule représente aussi une barrière passive qui empêche la diffusion de macromolécules à l'intérieur de l'enveloppe bactérienne. Elle secrète des enzymes impliquées dans la détoxification d'intermédiaires d'oxygène réactifs (catalase, peroxydase, superoxyde dismutase) qui sont impliqués dans la résistance de la bactérie aux mécanismes microbicides de l'hôte (Daffe and Etienne 1999).

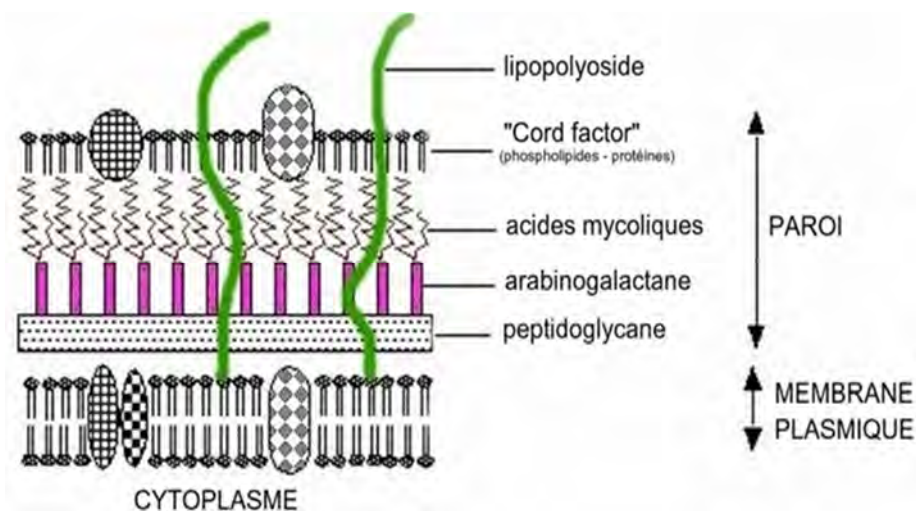


Figure 2: Schéma montrant l'enveloppe de *M. Tuberculosis* [85]

➤ Principales caractéristiques génétiques de *M. Tuberculosis* [34]

Aujourd'hui, nous avons à notre disposition sur le site du NCBI (National Center for Biotechnology Information) la séquence du génome de 13 mycobactéries, dont *M. tuberculosis*, *M. Leprae*, *M. bovis*, *M. smegmatis* et *M. ulcerans*. «L'avènement de techniques de biologie moléculaire a rendu possible l'approche génétique pour l'étude des mycobactéries. Le génome mycobactérien présente une taille de 4,4 Méga bases (MB) pour *M. tuberculosis* et 2,5 MB pour *M. Leprae*. (Cole et al.1998). Chez *M. tuberculosis* aucun plasmide n'a été mis en évidence. Des séquences d'ADN spécifiques et répétées en plusieurs endroits du chromosome ont été isolées : IS6110, IS1081, MPB70..., qui sont riches en guanine et en cytosine, ainsi que des séquences répétées directes ou DR (direct repeat). Leur hybridation avec des sondes d'ADN permet de faire le génotypage moléculaire des différentes souches de *M. tuberculosis*. Ce génotypage est basé sur la détection de séquences nucléotidiques répétitives comme la séquence d'insertion IS6110, les séquences polymorphes répétées riches en guanine et cytosine (PGRS pour polymorphic G+C-Rich séquences) et les séquences répétées directes (Kasai et al. 2000).

La séquence d'insertion IS6110 est spécifique du complexe *M. tuberculosis*, c'est une séquence de 1361 nucléotides, elle contient deux séquences répétées inverse (IR) de 28 pb et deux séquences directs répétées (DR) de 3 pb aux extrémités. Le nombre de copies d'IS6110 varie de 0 à 25 et cet élément est conservé chez les souches de *M. tuberculosis* (Thierry et al.1990).

La résistance aux antituberculeux est le résultat de la sélection des mutants résistants. Le support génétique de la résistance a été récemment identifié pour la plus part des anti-tuberculeux et ouvre ainsi des perspectives prometteuses pour un diagnostic rapide de la résistance (Kamerbeek et al 1997). Une étude réalisée chez les tuberculeux chroniques à Casablanca a montré des mutations responsables de la résistance du germe à la rifampicine (Soualhine et al, 2001). Une souche de *M. tuberculosis* de référence H37Rv a été complètement séquencé en 2002 par Stewart Cole et collaborateurs. Ainsi les différents gènes sont classés selon leurs fonctions, de nombreux gènes ont été nouvellement découverts de 1998 à 2002 ». Le génome de *M. tuberculosis* est caractérisé par un grand nombre de gènes

impliqués dans le métabolisme des acides gras (8% du génome environ) : il en contient 250, alors que le génome d'*E.Coli* n'en contient que 50 (1.5% du génome environ). Ceci est vraisemblablement lié à la capacité de *M. tuberculosis* à synthétiser des acides gras, des plus simples comme l'acide palmitique aux plus complexes comme les acides mycoliques qui entrent dans la composition de sa paroi (Cole, Brosch et al. 1998). La localisation la plus fréquente de la maladie tuberculeuse est pulmonaire, et qui est primordialement responsable de la transmission du bacille.

Dans le monde :

La tuberculose représente aujourd'hui encore à l'échelle mondiale un problème majeur de santé publique figure (3). En 2012, on estimait à 8,7 millions le nombre de nouveaux cas de tuberculose (dont 13 % Co-infectés par le VIH) et à 1,4 million le nombre de personne décédées de cette maladie, dont près d'un million séronégatives pour le VIH et 430 000 séropositives. L'OMS prévoit plus de 10 millions nouveaux cas en 2025 [48, 49].

Le fardeau de cette maladie n'est pas réparti de façon uniforme dans le monde. Tableau (I) et (II) :

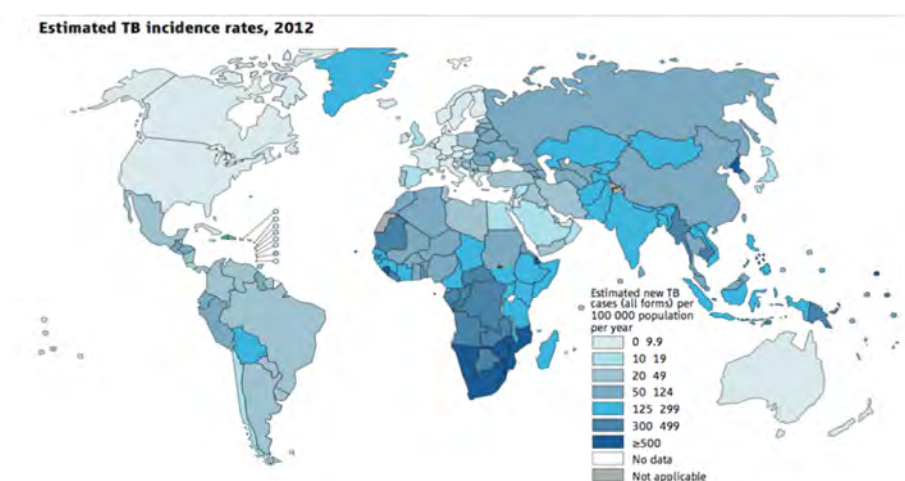
Tableau I: Les cinq premiers pays en termes de nombre Total de cas incidents en 2009

Pays	Nombre de cas incidents Par millions
Inde	1,60-2,40
Chine	1,10-1,50
Afrique de sud	0,40-2,59
Nigeria	0,73-0,55
Indonésie	0,35-0,52

Tableau II: Tuberculose dans le monde (2003)

Pays	Prévalence des sujets infectés	Nouveaux cas par an	Mortalité par an
En développement	1.700.000.000	7.500.000	1.800.000
Industrialisés	382.000.000	440.000*	64.000

*dont environ 300.000 en Europe de l'Est.

**Figure 3: Taux d'incidence de la tuberculose dans le monde en 2012 [85]**

Au Maroc :

L'exploitation des données concernant la tuberculose dans l'ensemble du royaume a montré plus de vingt années après l'obligation vaccinale, que le nombre de nouveaux cas est resté pratiquement stable de 1979 à 1989, sans variation significative de l'indice.

Les données épidémiologiques de 2012 rapportent un total de 27 437 nouveaux cas de tuberculose toutes formes confondues, donnant lieu à une incidence de 83 cas pour 100.000 habitants et 35 nouveaux cas pour 100 000 habitants pour la tuberculose pulmonaire à frottis positif. Depuis les cinq dernières années, la forme la plus prédominante est la forme extra-pulmonaire (TEP) avec en 2012, un total de 13122 cas de TEP (47,8%) contre 11 572 cas (42,2%) de tuberculose pulmonaire à microscopie positive (TPM+), 2 343 (8,5%) de tuberculose pulmonaire à microscopie négative (TPMO) et 400 cas (1,5%) de primo-infection (PIT). Cette maladie affecte l'adulte jeune de la société : 65% des cas ont un âge compris entre 15 et 45 ans. 58% des cas sont des hommes contre 42% de femmes.

La tuberculose est plus fréquente dans les régions les plus urbanisées et les plus peuplées du pays. 65% des cas enregistrés au niveau national sont identifiés dans six grandes régions représentées par le Grand Casablanca, Tanger-Tétouan (TT), Fès-Boulemane (FB), Rabat-Salé-Zemmour-Zaer (RSZZ), Gharb-Chrarda-Beni-Hssen (GCBH) et Souss-Massa-Daraa (SMD).

Les grandes villes sont particulièrement affectées; par exemple, 20% des nouveaux cas de tuberculose sont notifiés à Casablanca où l'incidence peut dépasser 140 nouveaux cas pour 100.000 par an dans certaines de ses préfectures. Les populations les plus touchées des grandes villes sont celles concentrées dans les quartiers pauvres et péri-urbains où les facteurs de transmission de la maladie sont favorables : habitat insalubre, pauvreté, précarité sociale, forte promiscuité humaine, malnutrition et autres.



Figure 4: Nouveaux cas de tuberculose déclarés, Maroc 2009 [98]

Les fréquences relatives des différentes atteintes viscérales de la tuberculose varient en fonction du terrain et de la géographie. L'atteinte ganglionnaire, localisation extra-pulmonaire la plus fréquente (30%), touche actuellement les adultes jeunes (de 20 à 40 ans) dans les pays occidentaux et les enfants dans les pays en voie de développement. Viennent ensuite, par ordre de fréquence, les atteintes pleurales (20%), génito-urinaires (16%), ostéo-articulaire (10 à 15%), les miliaires (10%), les atteintes neurologiques (environ 8%), abdominale (environ 6%) et enfin, les autres atteintes moins fréquentes (cutanée, oculaire, endocrinologique, cardiologique et ORL) [50].

3. Physiopathologie et Tuberculo-immunité

3.1 Mode de contamination

La transmission du bacille se fait essentiellement par l'intermédiaire des aérosols de bacille tuberculeux émis par les malades atteints de lésions ouvertes de tuberculose pulmonaire, c'est-à-dire par ceux dont l'expectoration contient des bacilles mis en évidence par l'examen microscopique direct [1].

Dans l'air rejeté par ces malades lorsqu'ils toussent, éternuent ou simplement parlent à voix haute, se trouvent de fines gouttelettes qui, après dessiccation partielle, se transforment en noyaux microscopiques (1 à 10 μm) demeurant longtemps en suspension dans l'air

ambient [1]. Il s'agit des « gouttelettes de Flügge » qui peuvent rester en suspension dans l'air et qui sont susceptibles d'être inhalées par les sujets contacts. Ces gouttelettes contiennent des bacilles infectants qui persistent jusqu'à 9 heures après leur émission [51].

La transmission du bacille est d'autant plus aisée que les malades contagieux toussent plus fréquemment et sans prendre de précaution, que le contact avec leur entourage est plus direct, que les locaux où ils se trouvent sont peu ou pas du tout ventilés.

Les mycobactéries sont sensibles aux radiations ultraviolettes et la transmission de jour en plein air est rare [1].

Il est important de savoir que ce sont seulement les tuberculeux pulmonaires qui sont responsables de la transmission de la maladie. Les malades positifs à la culture seulement et ceux dont les examens bactériologiques demeurent négatifs ne sont pratiquement pas contagieux même si le contact avec l'entourage est étroit [1].

La contagiosité d'un patient est liée à la quantité de bacilles présents dans ses crachats. Les patients positifs à l'examen microscopique direct des crachats (M+) sont les plus contagieux. Ceux positifs à la culture seulement (M-, C+) sont moins contagieux. Les patients dont l'examen microscopique direct et la culture de crachats sont négatifs (M-, C-) ne sont habituellement pas contagieux [1].

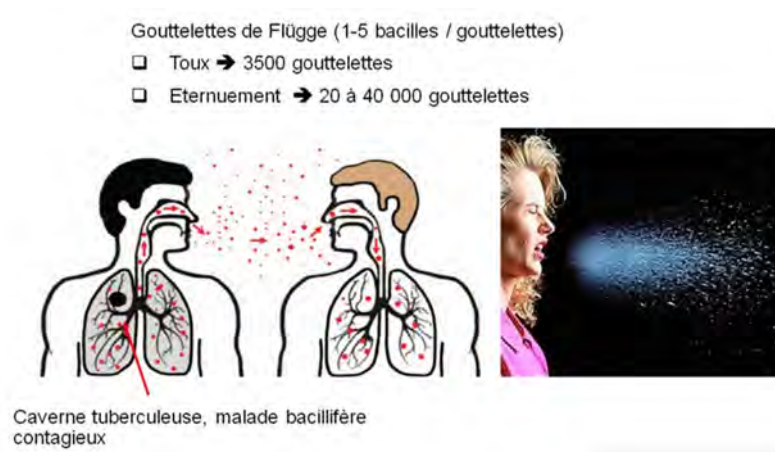


Figure 5: Transmission aérienne du bacille tuberculeux lors de l'émission de gouttelettes de Flügge par un malade tuberculeux bacillifère [85]

3.2 Histoire naturelle de la tuberculose

Le Bacille de Koch est présent dans l'expectoration, la transmission essentiellement interhumaine, se fait par voie aérienne directe. Les gouttelettes de salive et d'expectorations, produites en particulier par la toux d'un malade, servent de support aux BK. Projetées dans l'air expiré, elles restent en suspension sous forme d'aérosol et peuvent être inhalées par d'autres sujets à proximité. Cette contamination par inhalation peut entraîner une primo-infection tuberculeuse, début de l'histoire naturelle du processus infectieux.

- Primo- infection :

Après la contamination, le BK se multiplie lentement dans l'organisme, le plus souvent dans les alvéoles terminales des poumons (nodule de Ghon) et dans les ganglions des aires de drainage correspondantes. Les nodules de Ghon et l'adénopathie hilare constituent le complexe primaire.

En 1 à 2 mois, grâce aux lymphocytes et macrophages (immunité cellulaire), la lésion est circonscrite, encapsulée et centrée par une zone de nécrose parenchymateuse (nécrose caséeuse). C'est à ce moment qu'apparaît l'immunité tuberculeuse spécifique et que l'on observe le virage de la réaction cutanée à la tuberculine. Ce stade est habituellement asymptomatique, cependant, dans quelques rares cas des réactions d'hypersensibilité peuvent apparaître (érythème noueux, conjonctivite phlycténulaire).

Dans la majorité des cas (90%) la situation se stabilise à ce stade et la lésion pulmonaire cicatrise progressivement.

- Tuberculose active:

Pour les 10% restants:

L'évolution est favorable au BK qui poursuit sa multiplication. Des complications pulmonaires et pleurales peuvent survenir. A partir du complexe primaire, les BK sont disséminés (habituellement en petits nombres) par voie sanguine dans tout l'organisme, provoquant une maladie disséminée chez certains patients (souvent chez l'enfant): méningite tuberculeuse ou TB miliaire.

Une TB post-primaire peut se développer des mois ou des années après une primo-infection asymptomatique. L'apparition de la maladie est due à la réactivation de BK dormants, pouvant correspondre à une diminution de l'immunité (par exemple à une infection par le VIH). La TB post-primaire apparaît en général chez l'adulte.

La réinfection d'une personne ayant fait une primo-infection peut aussi provoquer une TB active. Ce mécanisme est probablement fréquent dans les pays où le risque d'infection est élevé ou dans des contextes spécifiques, tels que les prisons.

On estime que la moitié des cas de TB active apparaissent dans l'année qui suit l'infection.

Le risque de développer une TB active dépend:

- des défenses immunitaires de l'hôte (Ages extrêmes, association à d'autres maladies, malnutrition, la grossesse, substances toxiques et médicament)
- de la charge bacillaire (qui dépend de la proximité avec le patient-source, de la contagiosité du patient-source, de la durée de l'exposition).

- tuberculose iceberg:

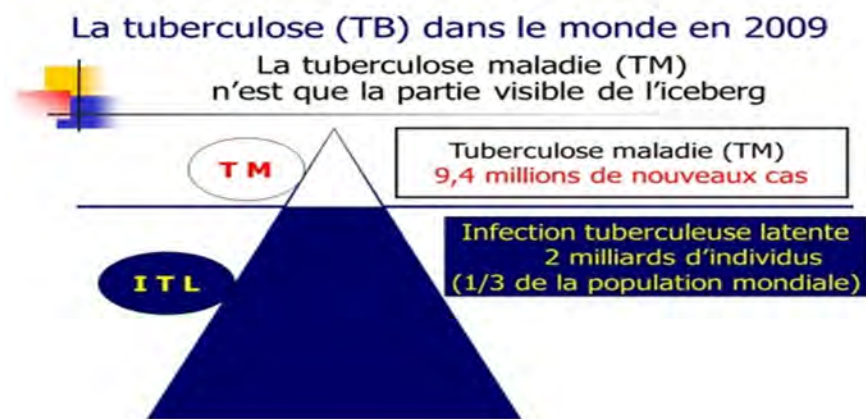


Figure 6: La tuberculose dans le monde en 2009 [85]

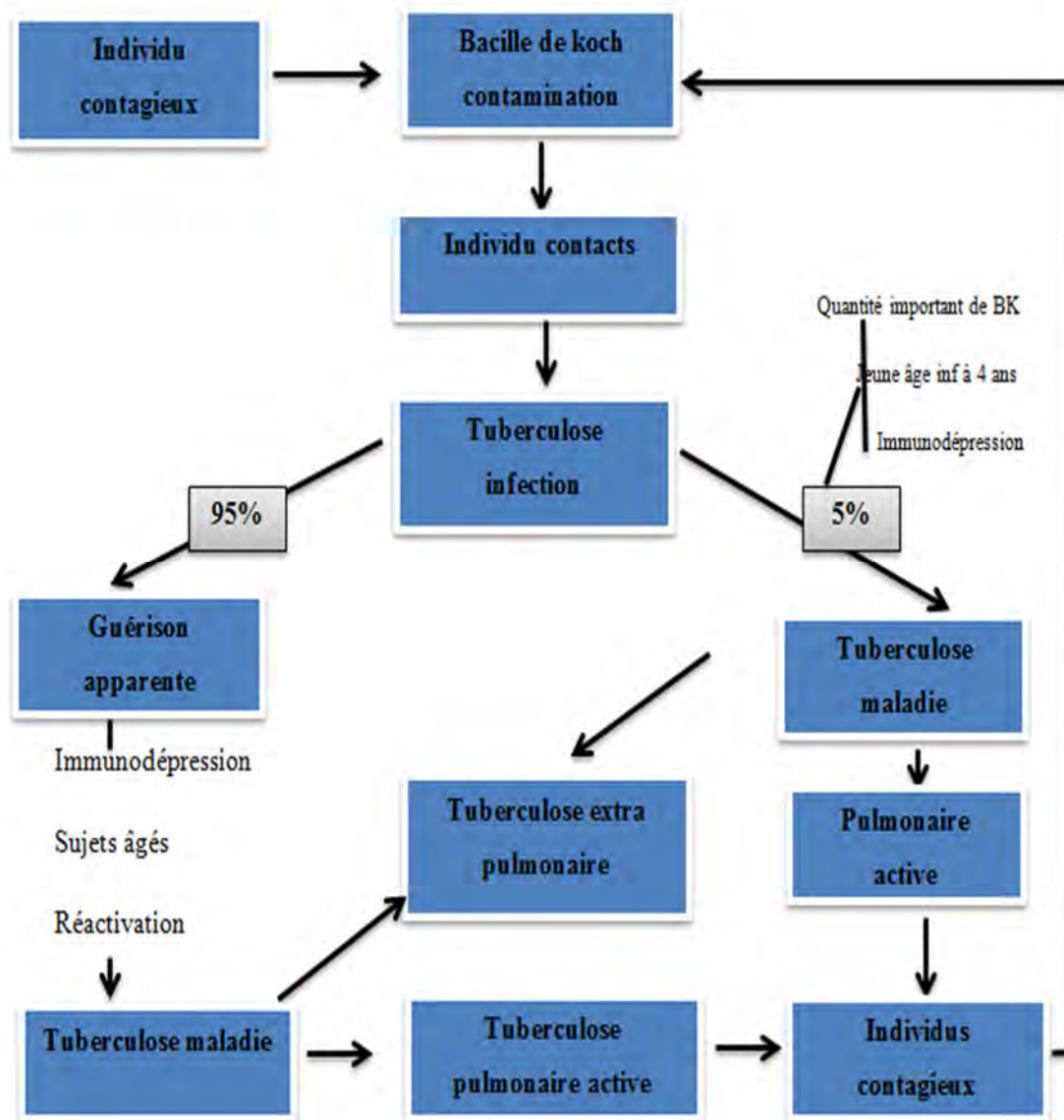


Figure 7: Histoire naturelle de la tuberculose.

3.3 Tuberculose pulmonaire

Elle fait suite soit à une primo-infection, soit à une réactivation de lésions dormantes post primaires, soit le plus souvent à une réinfection.

Elle peut survenir à tout âge, dans les pays à haute prévalence, les adultes de 20 à 35 ans constituent la tranche d'âge la plus affectée. Une toux persistante associée à d'autres signes : fièvre, sueurs nocturnes, asthénie, anorexie, perte de poids et hémoptysie, constitue le tableau clinique classique. Ces symptômes inquiètent habituellement le patient et ses proches.

La tuberculose pulmonaire à microscopie positive est pratiquement la principale source de contamination dans la collectivité, par conséquent, elle constitue le premier objectif de dépistage et de traitement.

3.4 Tuberculose extra-pulmonaire

Les bacilles disséminés dans l'organisme lors de la primo-infection peuvent entraîner des tuberculoses extra-pulmonaires lorsque les conditions favorables sont réunies.

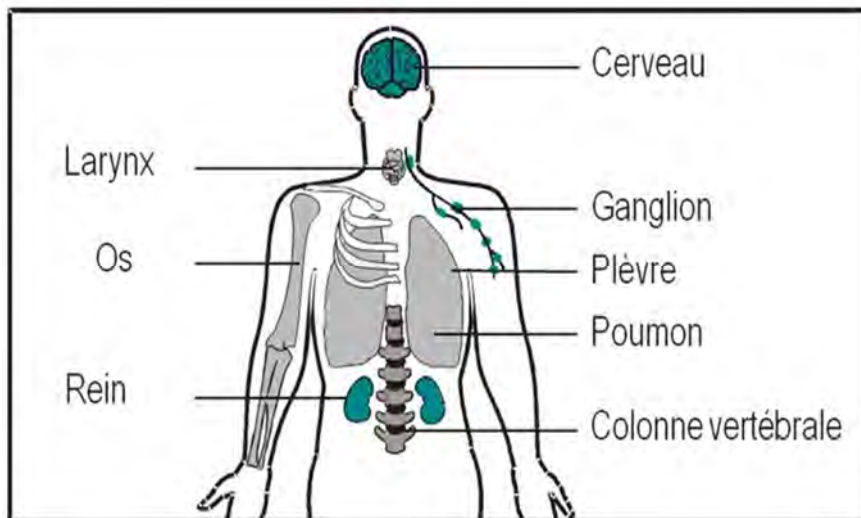


Figure 8: Localisations de la tuberculose pulmonaire et extra-pulmonaire [85]

4. Pathogénie

M. tuberculosis ne produit pas de toxine et infecte les macrophages de l'hôte. Ce n'est que dans la dernière décennie que les gènes liés à la virulence ont pu être mis en relief. Ces gènes ont pu être répartis en plusieurs catégories comme la structure de l'enveloppe cellulaire, la synthèse de lipides, de gènes de résistance au stress, etc.

Il est intéressant de noter que *M. avium* et *M. marinum* partagent avec *M. tuberculosis* la même stratégie d'infection de l'hôte en survivant et se multipliant au sein des macrophages. Après la phagocytose, ces derniers inhibent l'acidification et la fusion entre le phagosome et lysosome leur permettant de prospérer à l'intérieur du phagosome. *M. tuberculosis* survit dans le macrophage grâce à un système de détoxification de radicaux libres et de chélation du fer. Ce système implique les gènes *katG* codant pour la catalase peroxydase, le gène *furA* codant pour une protéine de captation du fer et *sodA* codant pour le superoxyde dismutase.

D'autre part, *M. tuberculosis* survie dans le macrophage grâce à son enveloppe cellulaire. Des voies de biosynthèses spécifiques sont impliquées dans la formation de cette enveloppe cellulaire comme celle de l'acide mycolique. La synthèse des acides mycoliques est souvent liée à des gènes déterminants dans la virulence comme *fbpA*, *mmaA4* et *LAM*. L'acide mycolique est un responsable important dans le rôle protecteur de l'enveloppe cellulaire chez *M. tuberculosis*. Plus spécifiquement, les motifs cyclopropanes permettent d'assurer l'intégrité de l'enveloppe cellulaire et protègent le bacille des stress oxydatifs comme ceux qui sont générés dans un phagosome. Par ailleurs, il semblerait que le gène *pks12*, possédant la plus grande phase ouverte de lecture dans le génome de *M. tuberculosis*, est directement impliqué dans la pathogénicité du bacille car il encoderait deux modules catalysant la formation des acides saturés tels que les acides mycoliques.

Interaction immunitaire

La tuberculose est d'abord et avant tout une infection des voies respiratoires. Le patient tuberculeux est le réservoir de bacilles et un facteur de risque très important. Le malade «cracheur» émet, en parlant, en toussant, un aérosol de très fines gouttelettes (droplet nucléi ou gouttelettes de flugge) dont certaines chargées de quelques bacilles sont mises en suspension dans l'atmosphère. Ces particules qui ne mesurent que quelques microns sont un véhicule efficace pour le bacille tuberculeux. En effet, leur petite taille leur confère des propriétés aérodynamiques particulières qui leur permettent, d'une part d'éviter d'être capturées et éliminées par le tapis mucociliaire comme c'est le cas des particules plus volumineuses, et d'autre part de suivre le flux d'air respiratoire jusqu'aux alvéoles pulmonaires où elles rencontrent le macrophage alvéolaire.

Dans la cellule phagocytaire infectée présentatrice d'antigène, en l'occurrence le macrophage, des déterminants antigéniques provenant, soit du métabolisme microbien, soit des constituants bactériens de surface prélevés à la surface des bacilles, modifiés ou non par la cellule présentatrice d'antigène, sont présentés à la surface cellulaire au moyen d'antigènes d'histocompatibilité de la classe I ou II.

Quand la cellule T a reconnu, par son site spécifique, l'antigène présenté par le macrophage, celui-ci élabore une monokine: l'interleukine 12 (IL12) médiateur chimique qui se fixe sur un récepteur spécifique des lymphocytes CD₄ et CD₈ et provoque leur activation. Celle-ci a deux conséquences, d'une part, elle favorise la sécrétion de l'interféron γ (INF γ) cytokine majeur qui est un élément essentiel dans l'activation du macrophage et, d'autre part l'interleukine 2 (IL2) qui se fixe sur les lymphocytes et permet leur multiplication clonale.

Au sein des populations de lymphocytes T, CD₄ et CD₈ ont été reconnues des sous-populations définies par leur propriété de sécréter des lymphokines particulières. C'est ainsi qu'au sein des CD₄ on distingue, d'une part les lymphocytes T / CD₄ / Th₁ qui élaborent l'INF γ et IL2. Ils jouent un rôle activateur et favorisent la réponse immunitaire protectrice. Les lymphocytes T / CD₄ / Th₂ sécrètent, d'une part l'interleukine 4 (IL4) qui exerce un effet freinateur sur la sécrétion des cytokines élaborées par des cellules Th₁ (INF γ et IL2), ce qui retentit défavorablement sur l'activation des macrophages et sur la multiplication clonale des

cellules T, d'autre part elles sécrètent l'interleukine 10 (IL10) qui diminue le nombre de molécules HLA de classe 2 à la surface des macrophages et, de ce fait, diminue la présentation de l'antigène aux cellules Th₁. L'association IL₁₀ et IL₄ produit en plus une désactivation du macrophage. Les cellules Th₂ ont donc un rôle freinateur de la réponse immunitaire protectrice. En pratique, dans l'obtention d'une réponse immunitaire harmonieuse, les populations Th₁ et Th₂ ne fonctionnent pas indépendamment mais ont des effets modulateurs croisés. En règle générale, en ce qui concerne la tuberculose, la réponse Th₁ est prédominante. La coopération du couple Th₁ – Th₂ a été particulièrement étudiée dans la lèpre où la forme tuberculoïde s'expliquerait par l'excès d'une réponse Th₁. Dans la lèpre lépromateuse, ce serait le système Th₂ qui prédominerait et empêcherait l'activation du macrophage.

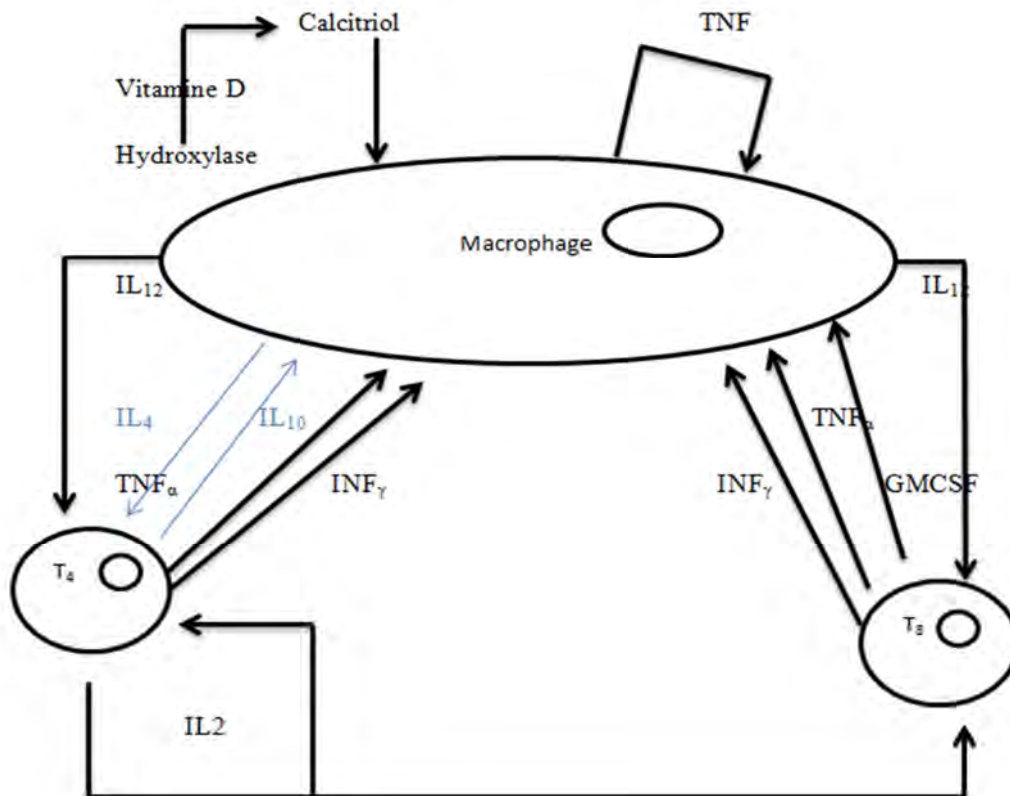


Figure 9: Principales interactions entre macrophages et lymphocytes [3]

Système activateur: l'infection du macrophage par *M. Tuberculosis* entraîne l'élaboration d'IL₁₂ qui active les cellules T₄ et T₈, celle-ci élabore INF γ et TNF α qui activent le macrophage. Les cellules T fabriquent IL₂ qui provoque la multiplication clonale des deux populations lymphocytaires. Les cellules T₈ secrètent le GMCSF qui contribue à l'activation du macrophage. Elle se traduit par une production augmentée de TNF α , la mise en œuvre du système oxydatif, la sécrétion de calcitriol, qui tue les B.A.A.R [3].

Le système freinateur : est élaboré par les lymphocytes. Deux lymphokines IL₄ et IL₁₀ agissent conjointement pour éviter l'emballement du système activateur. IL₁₀ élaborée par le macrophage et les lymphocytes T₄ diminuent la production d'INF γ et de TNF α [3].

On note que, chez les malades du SIDA, le déficit en cellules lymphocytaires T ne permet ni la formation du granulome ni l'activation du macrophage, les bacilles transportés par les macrophages essaient dans tout l'organisme et la tuberculose se généralise.

II. Tuberculose extra-pulmonaire

1. Définition

La tuberculose extra pulmonaire (TBE) est la présence d'un foyer tuberculeux dans l'organisme en dehors du parenchyme pulmonaire. Elle peut survenir en la présence d'une atteinte pulmonaire patente où peut être diffuse [99].

La tuberculose extra pulmonaire est fréquente, en particulier chez les sujets de race noire, les femmes et les patients immuno-supprimés. Elle se présente le plus souvent sous forme d'adénopathies, d'épanchement pleuraux, d'atteintes ostéo-articulaires. De manière générale, les TBE sont de diagnostic plus difficile que les atteintes des voies respiratoires car moins bacillaires : l'examen microscopique direct quel que soit le type de prélèvement, est plus rarement positif d'où l'intérêt de l'examen anatomo-pathologique et la culture. Ainsi le diagnostic des atteintes digestives, urologique ou méningées repose avant tout sur un index de suspicion clinique élevé.

Certaines localisations extra-pulmonaires sont graves et mettent en jeu le pronostic vital [52]:

- Miliaire tuberculeuse disséminée.
- Méningite tuberculeuse.

D'autres mettent en jeu le pronostic fonctionnel:

- Péricardite
- Atteintes vertébrale, rénale, intestinale, etc ...

D'autres sont plus fréquentes et peuvent entraîner des complications si le diagnostic est tardif:

- Tuberculose ostéo-articulaire.
- Atteintes pleurales et péritonéales.

L'atteinte multifocale peut résider dans le fait que les patients sont soumis à une infestation massive (intensité de la transmission) ou à un retard au diagnostic qui permettait à la maladie de disséminer aux différents organes [52].

2. Clinique

2.1 Facteurs favorisants [53]

Facteurs liés à l'environnement

Les facteurs favorisant le risque de contamination respiratoire sont les suivants:

- Séjour en zone d'endémie.
- Séjour en collectivité.
- Activité professionnelle en milieu de soins.

Facteurs liés à l'individu

L'altération des défenses immunitaires facilite l'expression de la tuberculose «maladie». Les facteurs favorisants individuels sont multiples.

- Situations de précarité

La malnutrition, par les perturbations des défenses immunitaires cellulaires qu'elle occasionne, est le principal facteur de développement du bacille tuberculeux dans l'organisme.

- Age,

Avec l'âge, les capacités de réponse immunitaire sont diminuées. Cette baisse progressive de l'immunité naturelle favorise la réactivation endogène de la tuberculose.

- Coïnfection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) [54]

La coïnfection VIH et tuberculose est aujourd'hui bien établie. En pratique, deux situations sont observées. Soit la tuberculose est révélatrice de l'infection à VIH, dans ce cas elle survient habituellement précocement au cours de l'histoire naturelle de l'infection

Rétrovirale, et le tableau est cliniquement et radiologiquement classique. Il importe de savoir demander un test VIH face à toute tuberculose. Soit la séropositivité VIH est antérieurement connue, et la tuberculose doit être évoquée devant tout tableau pulmonaire fébrile.

- Traitements immunosuppresseurs [54]

Le rôle d'une corticothérapie, d'une chimiothérapie anticancéreuse ou de tout autre traitement immunosuppresseur dans la réactivation clinique d'une tuberculose pulmonaire ou extra pulmonaire est bien connu.

2.2 Signes généraux [55]

L'altération de l'état générale, l'asthénie et l'amaigrissement sont fréquemment observés lors de la tuberculose.

La fièvre, généralement élevée, 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 3 semaines.

2.3 Signes cliniques respiratoires [55]

Ces signes peuvent être présents ou absents au cas de la tuberculose extra-pulmonaire.

Les signes respiratoires 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.

Les douleurs thoraciques sont peu fréquentes. Là encore, la persistance des signes plus de 3 semaines doit orienter vers le diagnostic et conduire à prescrire une radiographie thoracique.

2.4 Signes cliniques extra-respiratoires

2.4.1 Tuberculose ganglionnaire

Elle est souvent observée chez les enfants et moins fréquente chez les sujets de race blanche [100]. Les adénopathies sont la forme de tuberculose extra-pulmonaire la plus fréquente. La présentation est en général unilatérale et cervicale. Les adénopathies multiples, ou à localisation autre que cervicale, correspondent à des tuberculoses plus importantes, plus souvent associées à des signes généraux (fièvre, perte de poids) et à une localisation pleuropulmonaire concomitante. Ces formes plus généralisées sont en particulier décrit au cours du sida.



Figure 10: Adénopathie tuberculeuse [85]

2.4.2 Tuberculose pleurale [56, 57, 58, 59]

La tuberculose pleurale représente 20% des atteintes extra respiratoires, elle est prédominante dans les pays en voie de développement contrairement à ce qui est observé dans les pays du nord.

Elle se manifeste par une douleur à type de point de côté basithoracique unilatérale, irradiant vers l'épaule et l'hypochondre, déclenchée par l'inspiration profonde et augmentée par les changements de position, une dyspnée d'autant plus importante que l'épanchement liquidien est abondant, elle augmente quand le malade est couché du côté sain et se calme par le décubitus latéral du côté de l'épanchement, et une toux sèche, quinteuse, non productive, irritative, déclenchée surtout par les changements de position.

La radiographie thoracique met en évidence sur le cliché de face : une opacité dense homogène à limite supérieure concave en haut et en dedans, refoulant le médiastin et effaçant la coupole diaphragmatique. Sur le cliché de profil on note un comblement des culs-de sac postérieurs.

La ponction pleurale ramène un liquide jaune citrin, l'étude chimique montre un liquide exsudatif (taux de protéines $> 50\text{g/l}$ et un rapport des concentrations plèvre /sérum > 0.5) et pauvre en glucose. L'étude cytologique confirme une prédominance lymphocytaire. Le taux de l'adénosine désaminase (ADA) $> 3\text{ UI/ml}$ est un bon argument en faveur d'une pleurésie tuberculeuse avec une valeur prédictive positive de près de 100%. La mise en évidence du BAAR est rare dans le liquide pleural et les cultures ne sont positives que dans 15% des cas.

La ponction biopsie pleurale avec étude histologique des tissus biopsiés met en évidence des granulomes tuberculoïdes avec nécrose caséuse.



Figure 11: Radiographie du thorax [85]

2.4.3 Tuberculose urogénitale

Après ensemencement par voie hématogène, le bacille tuberculeux est présent le plus souvent dans les deux reins, même si dans la majorité des cas, la maladie est unilatérale [100]. Une tuberculose rénale peut survenir quelle que soit la forme de la tuberculose. Souvent il est retrouvé de façon concomitante une localisation pulmonaire qui n'est pas nécessairement active. La leucocyturie aseptique est évocatrice et l'urographie objective habituellement des anomalies d'autant plus importantes que l'évolution de l'infection est prolongée : modifications des structures urinaires qui paraissent rétrécies et rigides, avec une moindre capacité à se déformer, des calcifications suggestives, une hydronéphrose. Chez l'homme, une atteinte génitale est fréquemment associée à l'atteinte rénale, pouvant impliquer la prostate, les vésicules séminales, les épидидymes et les testicules. Chez la femme, la tuberculose génitale débute par une salpingite, à partir de laquelle l'infection peut progresser vers les autres organes génitaux, et provoquer une stérilité.

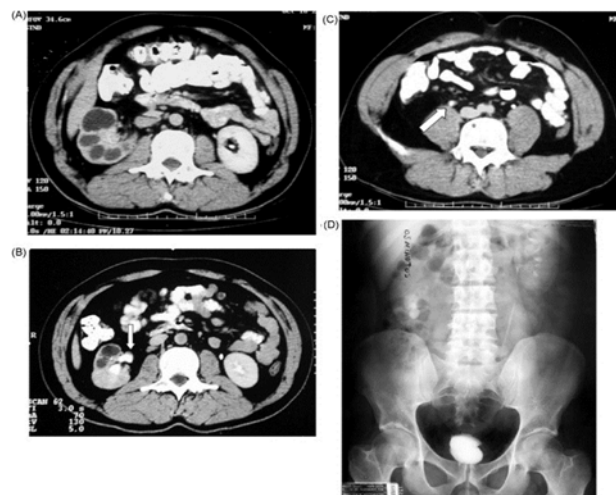


Figure 12: Patient avec une tuberculose rénale unilatérale [85]

2.4.4 Tuberculose ostéo-articulaire

Ces formes de TB se rencontrent surtout chez l'enfant, probablement à cause d'une meilleure vascularisation et d'une meilleur oxygénation des structures ostéo-articulaires au cours de la croissance.

Arthrites : il s'agit de mono-arthrites chroniques, débutant insidieusement, peu ou pas douloureuses, s'accompagnant de destructions articulaires. Les articulations les plus souvent touchées sont celles de la hanche, du genou, du coude et du poignet. La moitié des patients ont simultanément une tuberculose pulmonaire.

Ostéites : (moins fréquentes) : elles peuvent être primitives ou venir compliquer une arthrite. Elles siègent électivement au niveau des os longs et s'accompagnent parfois d'abcès froids. Comme les arthrites, elles se distinguent des infections à germes banals par le contraste entre la discrétion des symptômes et l'importance des destructions observées à la radiographie.

Spondylodiscite : ou Mal de Pott : le mal de pott peut survenir à tout âge. Il affecte les vertèbres et les disques, entraînant une destruction et une déformation du rachis.

La localisation lombaire est la plus fréquente. Une douleur localisée peut précéder de plusieurs mois l'apparition des premières anomalies radiologiques (destruction d'un disque intervertébral). Un abcès froid para-vertébral peut accompagner les lésions ostéo-articulaire ; des signes neurologiques peuvent les compliquer. La tuberculose ostéo-articulaire résulte d'une réactivation endogène de foyers bacillaires liés à l'infection initiale, bien que des localisations vertébrales aient été imputées à une atteinte ganglionnaire para-vertébrale. L'infection, après avoir débuté dans les zones osseuses sous chondrales s'étend vers le cartilage, la synoviale et l'espace articulaire. Cela produit un aspect caractéristique d'érosion métaphysaire avec une perte du cartilage et un rétrécissement de l'espace articulaire. Le Mal de Pott est la forme la plus fréquente.

La tuberculose articulaire touche le plus souvent les grosses articulations portantes comme la hanche et le genou.

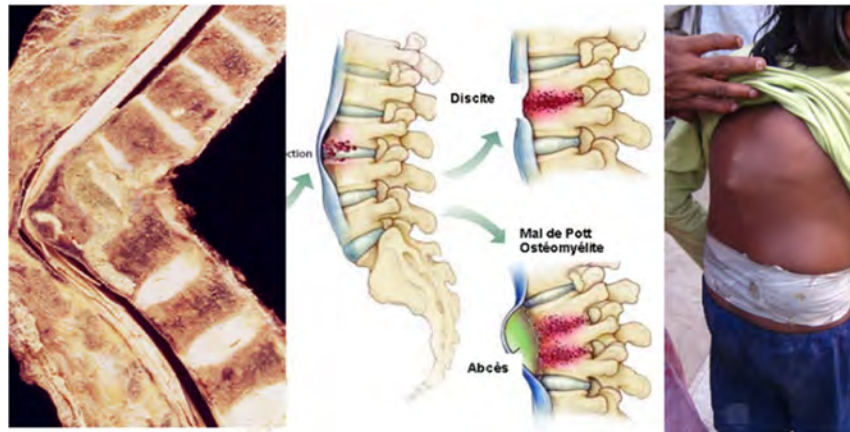


Figure 13: Mal de pott [85]



Figure 14: Tuberculose osseuse [85]

2.4.5 Tuberculose neuro-méningée

La méningite tuberculeuse se présente sous la forme d'une méningite d'installation plutôt progressive sur quelques semaines, isolée, ou associée à des signes neurologiques focaux, avec en particulier une atteinte évocatrice de la base du crâne. Le début est souvent insidieux (fièvre, anorexie, vomissements, régression pondérale, céphalées) avec des troubles du comportement (irritabilité, apathie) qui sont parfois les seules manifestations à attirer l'attention, et plus tardivement des signes neurologiques (convulsions, paralysie oculomotrice, troubles de conscience, coma). Une hyponatrémie par sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique est habituelle. Une autre atteinte tuberculeuse concomitante suggère

le diagnostic, mais n'est pas systématique. L'orientation diagnostique est principalement donnée par l'analyse du LCR qui est souvent à prédominance lymphocytaire et surtout hypoglycorachique avec une hyper-protéinorachie franche. L'isolement du BK à partir du LCR est relativement rare et nécessite un prélèvement d'au moins 2 ml. Une imagerie cérébrale (tomodensitométrie, résonance magnétique) doit être systématique dans cette situation. Des tuberculomes intracérébraux peuvent accentuer les troubles neurologiques ou psychiatriques, ou se manifester par des crises convulsives. Des troubles aigus ou séquellaires sur la circulation du LCR peuvent conduire à une hydrocéphalie, pouvant nécessiter le recours à des évacuations itératives de LCR, voire à la pose d'une valve de dérivation.

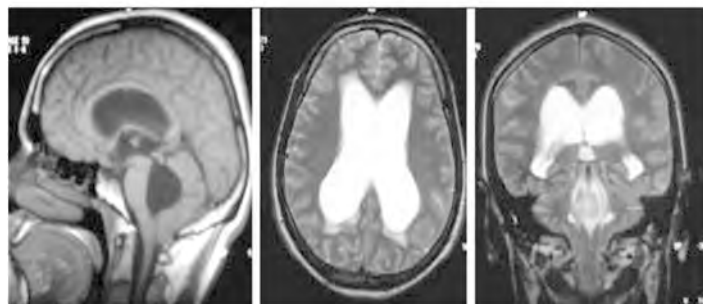


Figure 15: Méningite tuberculeuse [85]

2.4.6 Tuberculose digestive

Les manifestations cliniques de la tuberculose abdominale dépendent de l'organe atteint. Les plus communément atteints sont le caecum et l'iléon terminal. Les manifestations cliniques sont des douleurs, une masse palpable, qui peut même après exploration complémentaire être confondue avec un carcinome. Les lésions rectales se présentent habituellement comme des abcès ou des fistules. La tuberculose péritonéale est généralement douloureuse, et s'accompagne souvent d'une augmentation du volume abdominal. La fièvre, l'amaigrissement et l'anorexie sont assez fréquents. La contamination du tube digestif se fait par la déglutition de sécrétions contaminées. L'ensemble du tube digestif peut être impliqué, depuis la bouche jusqu'à l'anus, sous forme d'ulcérations ou de masse d'allure tumorale exubérante pouvant faire dévier le diagnostic.

L'évolution peut se faire vers des complications telles qu'une hémorragie, une perforation, une obstruction, une fistulisation et des troubles sévères de malabsorption. La réponse au traitement antibiotique est excellente et doit laisser si possible le délai nécessaire à son évaluation avant tout recours à la chirurgie.

Des tuberculoses pancréatiques existent sous un aspect d'abcès ou de masse hétérogène, impliquant aussi des ganglions, qui peuvent à tort orienter vers une tumeur. Par ailleurs, les voies biliaires peuvent être obstruées par des adénopathies tuberculeuses contiguës, et des cholangites tuberculeuses ascendantes ont été aussi décrites. La tuberculose est une cause fréquente d'hépatite granulomateuse, habituellement asymptomatique, ou du moins associée à une élévation isolée des phosphatases alcalines.



Figure 16: Tuberculose abdominale [85]



Figure 17: Tuberculose intestinal [85]

2.4.7 Tuberculose cutanée [60-61]

La localisation cutanée de la tuberculose demeure une forme rare et représente seulement 2,1% des localisations. Elle affecte particulièrement les sujets jeunes de sexe féminin. L'évolution anatomopathologique de la tuberculose cutanée passe par la formation de nodules tuberculeux, la caséification puis la calcification. Le diagnostic de la tuberculose cutanée repose sur un faisceau d'arguments épidémiologiques, cliniques, histologiques et confirmé par l'isolement de bacilles et l'étude anatomo-pathologique de la biopsie cutanée. Parfois, l'épreuve thérapeutique qui entraîne la disparition des lésions en quelques semaines affirme l'origine tuberculeuse de la maladie.



Figure 18: Tuberculose cutanée [85]

2.4.8 Tuberculose péricardique

L'épanchement péricardique avec épaissement du péricarde est la forme la plus fréquente. Les symptômes observés résultent de l'infection ou de l'atteinte péricardique: fièvre, amaigrissement, sueurs nocturnes. Tardivement peuvent être observées toux, dyspnée, orthopnée, douleur thoracique pouvant mimer une douleur angineuse. Le péricarde peut contenir entre deux et quatre litres, l'épanchement peut être hémorragique et contenir des monocytes et des polynucléaires. L'évolution se fait rarement vers la tamponnade mais à cause de l'inflammation persistante, elle se fait vers une insuffisance cardiaque par constriction cardiaque chronique. La corticothérapie est associée au traitement dans cette

forme. En cas de pleurésie, péricardite et péritonite tuberculeuses, l'extension se fait par suffusion de contiguïté. Les pleurésies et péricardites tuberculeuses sont classiquement décrites dans les semaines ou mois suivant une primo-infection.

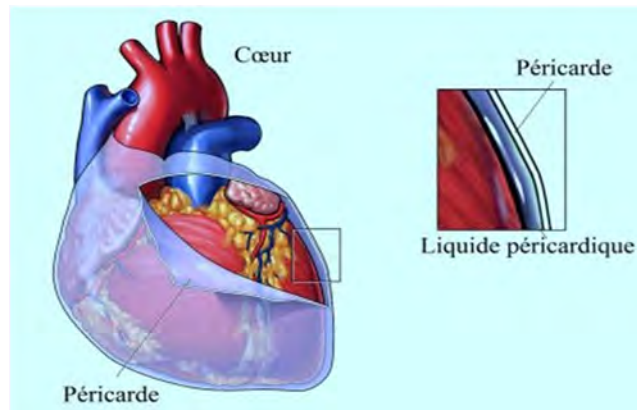


Figure 19: Cœur et péricarde [85]

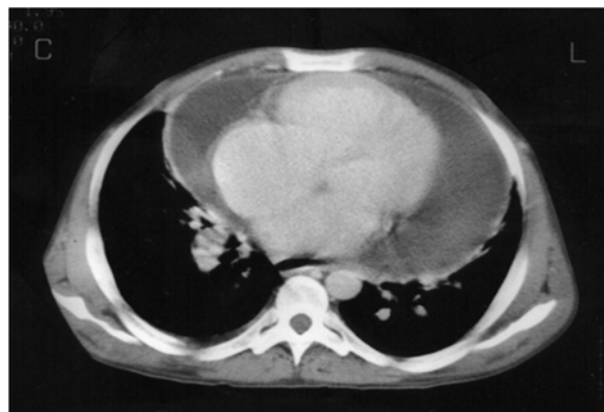


Figure 20: Péricardite tuberculeuse [85]

2.4.9 Formes Multifocales [100]

La tuberculose miliaire est le résultat de la dissémination hémotogène de BK soit à partir d'une infection tuberculeuse récente, soit à partir d'une réaction d'un foyer tuberculeux ancien. Le terme de miliaire provient de la similarité des lésions miliaires tuberculeuses (granulomes de 1 à 2 mm de diamètre) avec des grains de Milvius sur la radiographie du thorax dans 85% des cas sous la forme de micronodules diffusant dans les champs

pulmonaires. Le diagnostic de la miliaire tuberculeuse est clinique. En raison de la dissémination du BK, les manifestations cliniques sont diverses et peu spécifiques, mais réalisent un tableau sévère avec insuffisance respiratoire se majorant progressivement: fièvre, amaigrissement, anorexie, asthénie, toux, dyspnée, plus rarement céphalée et confusion liées à une méningite tuberculeuse, hépatomégalie, adénopathie et splénomégalie. Un signe de la miliaire tuberculeuse est le tubercule de Bouchut, tâche blanche à bords flous, peu saillante, siégeant sur la rétine près d'un vaisseau.

2.4.10 Tuberculose oculaire

Les atteintes oculaires représentent 1 à 2% des atteintes extra pulmonaire. Toutes les structures de l'œil, à l'exception du cristallin, peuvent être concernées. Certaines de ces manifestations, comme les tuberculomes ou les tubercules de Bouchut, sont liées à la présence du bacille dans l'œil, D'autres, tel que les uvéites, sont le reflet d'une hypersensibilité retardée au bacille de Koch.



Figure 21: Tuberculose oculaire [85]

2.4.11 Autres formes rares [62-63-64]

- La tuberculose laryngée :

Quant à elle se manifeste par une dysphonie traînante intermittente. La laryngoscopie montre une hypertrophie des cordes vocales avec des ulcérations.

- La tuberculose thyroïdienne :

Définit par la présence de BK ou la présence de lésions histologiques spécifiques dans le tissu thyroïdien, elle peut revêtir différentes formes cliniques, ce qui rend le diagnostic difficile.

2.5 Signes fonctionnels

Les symptômes varient selon l'organe infecté par le BK :

- Dans la tuberculose ganglionnaire : hypertrophie douloureuse d'un ou de plusieurs ganglions lymphatiques (adénopathies), le plus souvent de la région cervicale.
- Dans la tuberculose urogénitale : douleurs rénales, miction anormalement fréquentes et peu importantes (pollakiurie), brûlures mictionnelles, pus ou sang dans les urines, troubles génitaux (fistule du scrotum, nodule prostatique...).
- Dans les formes de tuberculoses osseuse ou articulaire : douleur, inflammation limitation de la mobilité de l'articulation touchée. L'atteinte concerne le plus souvent les grosses articulations. Celle du rachis est connue sous le nom de mal de pott.
- Dans la tuberculose cérébro-méningée : douleurs et raideur de la nuque de la méningite, abcès cérébraux (tuberculomes cérébraux).
- Dans la tuberculose digestive : anorexie, douleurs et distension abdominales.

2.6 Examen physique [58]

- Pleurésie —————> le trépied pleurétique
 - Matité «de bois»
 - baisse des vibrations vocales
 - baisse de murmure vésiculaire
- } grande cavité

- La tuberculose digestive
 - matité déclive
 - signe du flot
 - quelque fois un signe du glaçon
- La tuberculose péricardique
 - frottement péricardique dans la moitié des cas, mieux perçu en cas d'épanchement de faible abondance. Son absence n'élimine pas le diagnostic.

3. Para-clinique

Le diagnostic de la tuberculose repose sur la mise en évidence de mycobactéries à l'examen microscopique des expectorations (ou d'autre matériel biologique) d'un malade. L'examen radiologique et les symptômes cliniques fournissent des indices mais ne constituent pas une preuve formelle de la tuberculose. Le test tuberculinique et les nouveaux tests sanguins (détermination de la libération de l'interféron gamma [IFN- γ] par les lymphocytes sensibilisés) représentent un indice de l'infection tuberculeuse mais ne permettent pas de déterminer le stade auquel se trouve le sujet infecté. Les symptômes et les signes de la tuberculose dépendent de la localisation et de l'extension de la maladie et diffèrent en fonction du stade évolutif.

3.1 Les différentes méthodes de diagnostic

3.1.1 Recherche de l'allergie tuberculinique (IDR)

La plupart des personnes qui entrent en contact avec des mycobactéries développent une réaction immunitaire dite retardée qui repose sur la sensibilisation des lymphocytes T. Cette réaction immunitaire peut être mise en évidence par la réaction cutanée à l'injection intradermique de tuberculine, que l'on obtient à partir de cultures de *M. tuberculosis*, ou par la mesure in vitro de la libération de l'interféron gamma à partir des lymphocytes T stimulés (tests IFN- γ). La mise en évidence d'une sensibilisation contre les antigènes tuberculeux est une preuve indirecte qu'une infection due à *M. tuberculosis* s'est produite à la suite d'un

contact avec un cas de tuberculose contagieuse. Ni le test tuberculinique ni les tests IFN- γ ne permettent de distinguer entre une infection tuberculeuse latente (ITBL) et une tuberculose.

Ils ne sont donc pas indiqués pour confirmer ou exclure une tuberculose dans les cas cliniquement ou radiologiquement suspects.

o Test tuberculinique

Principe du test

Le standard utilisé en Suisse est la tuberculine PPD RT23 (PPD pour Purified Protein Derivative) du Statens Serum Institut de Copenhague. La technique utilisée pour effectuer l'intradermo-réaction est celle de Mantoux. Le test de Mantoux se pratique en injectant, par voie intradermique, sur la face interne de l'avant-bras, 0,1 ml de solution correspondant à deux unités de tuberculine PPD RT23. Il n'y a aucune indication reconnue à pratiquer un test de Mantoux avec un autre dosage. L'injection se fait par voie strictement intra-cutanée avec une seringue à tuberculine, en utilisant une aiguille fine à biseau court, ouverture dirigée vers le haut (**Figure 22,23**). Il n'est pas nécessaire de désinfecter la peau au préalable. L'injection doit provoquer l'apparition d'une papule blanche qui disparaît spontanément en quelques minutes. L'emplacement du test ne doit pas être recouvert d'un pansement. La lecture se pratique au plus tôt à 48 heures, mais de préférence 72 heures après l'injection. Le résultat s'exprime par la dimension en millimètres du diamètre transverse (perpendiculaire à l'axe du bras) de l'induration palpable, sans tenir compte du diamètre de l'éventuel érythème (**Figure 24**). L'induration doit être nette (environ 1 mm d'épaisseur). Une induration à peine perceptible doit être interprétée comme une réaction douteuse et notée comme telle. La lecture peut se pratiquer jusqu'à sept jours après le test, en tenant compte d'une atténuation progressive de la netteté des bords de l'induration après le troisième jour.

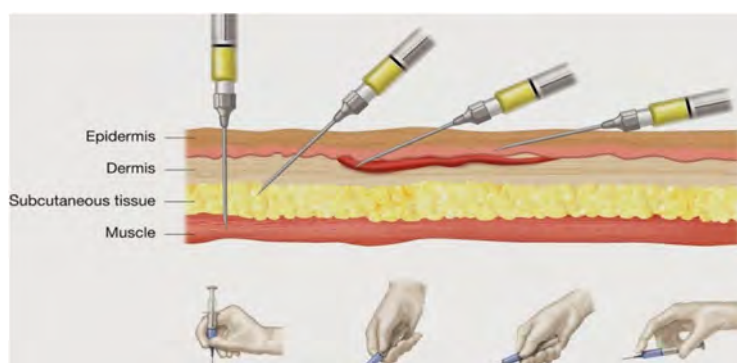


Figure 22: Technique d'injection intradermique [85]



Figure 23: Technique d'injection intradermique [85]

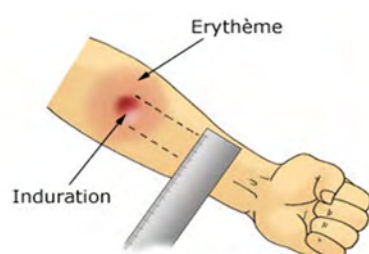


Figure 24: Technique d'interprétation d'une intradermoréaction à la tuberculine [85]

3.1.2 Diagnostic biologique [65-66-67]

➤ Bilan d'orientation

La numération formule sanguine et les analyses biochimiques de routine sont souvent normales au cours de la tuberculose pulmonaire. La CRP est élevée chez 85 % des patients. Dans les formes évoluées de la maladie, une anémie normocytaire, une hyperleucocytose ou une monocytose sont observées. L'hyponatrémie secondaire à un syndrome de sécrétion inappropriée de l'hormone antidiurétique ou à une insuffisance surrénalienne peut être observée. Une hypo albuminémie avec hyper gamma-globulinémie peut survenir plus tardivement. Dans les pays à haute prévalence d'infection par le VIH, la sérologie VIH est recommandée en raison de la fréquence importante de la coïnfection.

➤ Diagnostic bactériologique

✓ Prélèvement – transport [68]

Devant toute localisation extra-pulmonaire des prélèvements pulmonaires sont réalisées.

• Prélèvements pulmonaire

Les expectorations

Les crachats sont prélevés le matin, à jeun si possible, 3 jours de suite. Augmenter au-delà le nombre de prélèvements n'augmente pas le taux de positivité. Cinq ml de crachats (2 à 3ml minimum) doivent être obtenus. Chaque prélèvement faisant l'objet d'un examen, il convient de ne pas mélanger les crachats prélevés des jours différents.



Figure 25: Flacon stérile [85]

Les crachats induits

Les crachats dits « induits », sont ceux émis après inhalation d'aérosols de sérum physiologique stérile. Ils sont recueillis par un personnel protégé (masque) pour diminuer les risques de contamination. Ils ne sont réalisés qu'après recueil de deux crachats émis spontanément et présentant un examen microscopique négatif.

Ils sont préconisés en remplacement des aspirations bronchiques

Tubage gastrique

Le tubage gastrique est le recueil des sécrétions bronchiques dégluties pendant le sommeil. Cette épreuve est réalisée chez un sujet à jeun, maintenu alité depuis la veille et. Cinq à six ml d'aspiration du liquide gastrique sont recueillis dans un récipient stérile. Le tubage gastrique est effectué 3 jours de suite.

L'acidité gastrique étant néfaste pour les mycobactéries ; il est recommandé de traiter l'échantillon dans les 4h, sinon il est souhaitable de neutraliser avec 100 mg de bicarbonates de soude.

- **Prélèvements extra-pulmonaire**

Les liquides de ponction

Les liquides séro-fibrineux (liquide pleural, liquide d'ascite, LCR hémorragique, liquide articulaires, par exemple) sont prélevés préférentiellement sur héparine (exclure l'EDTA qui inhibe la croissance des mycobactéries). Plus le volume est important (par exemple entre 1 et 2 ml pour un LCR) plus le prélèvement est contributif car il s'agit de prélèvements souvent pauci bacillaires. Ils sont centrifugés en conservant environ 1 ml de surnageant après centrifugation.

Hémocultures

Chez les patients immunodéprimés, les mycobactéries peuvent être présentes dans le sang mais en quantité faible. Deux à 3 prélèvements sanguins successifs selon les recommandations d'une hémoculture classique mais en utilisant les milieux de culture spécifiques des mycobactéries (milieu liquide 7H9). Il est indispensable de prévenir le

biologiste afin d'utiliser les flacons adéquats. Les prélèvements sont répétés en cas de négativité de culture, dans un délai de 2-3 semaines. Les milieux spécifiques sont incubés pendant au moins 45 jours. La détection de la croissance peut être automatisée. L'utilisation de tubes Isolator® n'est plus recommandée.

Moelle osseuse

La moelle est recueillie sur héparine. L'ensemencement de la totalité du prélèvement s'effectue directement dans un milieu liquide ou dans un flacon d'hémoculture en fonction du caractère hémorragique de l'échantillon.

Urines

La totalité des urines de la nuit, est recueillie après restriction hydrique sur la nuit. Cette recherche est réalisée 3 jours consécutifs après avoir vérifié la présence de germes banals. Chez les patients immunodéprimés (VIH+, par exemple) dont les autres prélèvements sont négatifs pour la recherche des BAAR, cette recherche peut être effectuée même en l'absence de leucocyturie.

Selles

Bien que la recherche de mycobactéries dans les selles soit de moins en moins recommandée, le prélèvement consiste en 1 g de selles prélevé dans un pot stérile, conservé et/ou transporté à +4°C

Tissus : ganglions, biopsies, peau, os

Ces échantillons cliniques sont prélevés stérilement avec recueil d'une quantité suffisante de tissu déposé dans un flacon stérile, contenant éventuellement quelques gouttes de sérum physiologique stérile afin d'éviter sa dessiccation.

Abcès, lésions cutanées, plaies

La peau doit être désinfectée avant tout prélèvement. Les abcès sont ponctionnés. Les prélèvements de plaies ou lésions cutanées sont réalisés à la périphérie des lésions, en privilégiant une biopsie. Les écouvillons sont interdits.

- **Transport et conservation des échantillons**

Les prélèvements pour la recherche de mycobactéries sont dans la majorité des cas des prélèvements programmés. Ils doivent donc être acheminés durant les heures d'ouverture du laboratoire le plus rapidement possible (≤ 2 heures), afin d'éviter une multiplication des bactéries commensales. En cas de délai supplémentaire, celui-ci est conservé et/ou transporté à +4°C jusqu'à vérification de l'absence de contamination des cultures.

- ✓ **Diagnostic direct**

Le traitement des échantillons pour recherche de mycobactéries suit toujours le même processus en vue d'un double objectif :

- d'une part, de pratiquer un examen permettant de fournir une réponse rapide. L'examen microscopique à la recherche de BAAR est le plus courant. En fonction du contexte, d'autres méthodes pourront également être mises en œuvre ;

- d'autre part, de procéder à une mise en culture, avec des délais de réponse prolongés, qui aura pour mérite de sensibiliser le diagnostic mais aussi d'isoler la bactérie. Il sera alors possible de l'identifier, de mesurer sa sensibilité aux antibiotiques et éventuellement de procéder à des études d'ordre épidémiologique [102].

La manipulation des mycobactéries, en particulier celles appartenant au complexe tuberculosis, n'est pas dénuée de risque pour le personnel du laboratoire. Elle doit être faite dans un laboratoire convenablement équipé répondant à des critères de sécurité adéquats. [102].

- **Examen microscopique [102]**

Depuis plus de 125 ans, l'examen microscopique direct demeure un outil très simple et rapide renseignant sur la présence de BAAR dans les échantillons biologiques. Dans la démarche diagnostique de tuberculose pulmonaire associée à des signes clinico-radiologiques, voire histologiques, l'examen direct renseigne sur le caractère bacillifère et donc contagieux du patient, permettant ainsi de conforter voire d'imposer l'isolement respiratoire du patient et de dépister les éventuels contacts.

Cette étape clé repose le plus souvent sur une coloration fluorescente à l'auramine, plus sensible que celle de Ziehl-Neelsen (coloration de référence). La lecture après coloration à l'auramine, requiert un microscope à lampe à mercure, supplantée récemment par l'utilisation de light emitting diode (LED), moins coûteuse, plus robuste et de performance identique. Les BAAR apparaissent sous forme de bacilles verts fluorescents sur fond rouge pour les frottis colorés à l'auramine et rosés sur fond bleu après coloration de Ziehl-Neelsen.

Le résultat microscopique est un résultat quantitatif dénombrant le nombre de BAAR par frottis ou par champ selon la standardisation du centers for disease control and prevention (CDC), Atlanta, USA.

Le seuil de détection microscopique est de l'ordre de 10^4 BAAR/ml d'échantillon. La sensibilité est variable en fonction du type de prélèvement: 10–20 % pour les prélèvements extra-pulmonaires et 65 % pour les pulmonaires. De ce fait, un examen direct négatif permet d'exclure l'éventualité d'un cas bacillifère ou très bacillifère mais n'exclut en aucun cas le fait que le patient puisse être pauci-bacillifère et donc éventuellement contagieux. Un examen microscopique négatif n'élimine pas un diagnostic de tuberculose. De même, il ne prédit pas une guérison dans le cadre d'un suivi de traitement antituberculeux.

En l'absence de clinique ou d'imagerie thoracique en faveur d'une tuberculose pulmonaire active, ou en l'absence de contact avec un sujet immunodéprimé, ou encore de notion de tuberculose multi-résistante, 3 examens microscopiques négatifs permettent de lever un isolement respiratoire instauré initialement devant une suspicion de tuberculose pulmonaire.

L'examen microscopique positif présente lui aussi des limites. Bacilles tuberculeux et mycobactéries atypiques ne peuvent être différenciés. Par ailleurs, ne renseignant pas sur le caractère vivant ou mort des bacilles, l'examen direct positif n'est pas un bon marqueur d'efficacité thérapeutique, d'échec thérapeutique ou de rechute tuberculeuse.

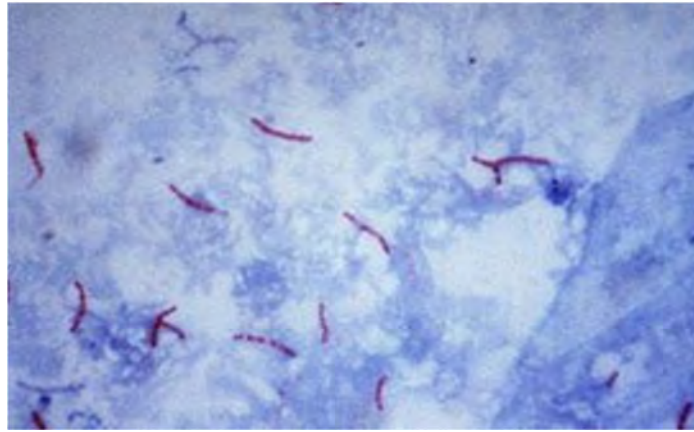


Figure 26: Examen direct : cette photomicrographie montre des bacilles de *M. tuberculosis* repérés par la méthode de coloration de ziehl-Nelson (grossissement 1000*) [85]

- **Culture en milieu solide ou liquide**

Quel que soit le résultat de l'examen microscopique, les échantillons seront ensuite mis en culture, soit sur un milieu traditionnel à base d'œuf (p. ex. milieu de Löwenstein ou d'Ogawa) ou à base d'agar, soit en milieu liquide, soit encore dans un milieu spécifique permettant le dépistage de la croissance bactérienne par la libération d'un marqueur radioactif ou coloré (technique Bactec et dérivés).

La culture est beaucoup plus sensible que l'examen microscopique (la moitié des cas de tuberculoses pulmonaires et une proportion plus importante encore des cas extra-pulmonaire documentés sont négatifs à l'examen microscopique et ne sont donc diagnostiqués que par la culture).

En raison de la croissance lente des mycobactéries, il est souvent indispensable d'attendre plusieurs semaines, pour obtenir le résultat. Sur le milieu solide le Loewenstein-Jensen, les colonies sont détectées en moyenne en trois à quatre semaines.

Avec les milieux de culture liquides, dont beaucoup de laboratoires disposent aujourd'hui (milieu MGIT), la détection de la multiplication, basée sur divers principes physico-chimiques se fait une semaine plus tôt en moyenne [69].

La culture permet de faire l'identification du complexe *Mycobacterium Tuberculosis* par la morphologie des colonies sur milieu solide (aspect rugueux, en chou-fleur, blanc crème) et de procéder à la mesure de la sensibilité aux anti-bacillaires [69].

Le seuil de détection est de 10 à 10^2 bacilles/ml. D'échantillon biologique [102].

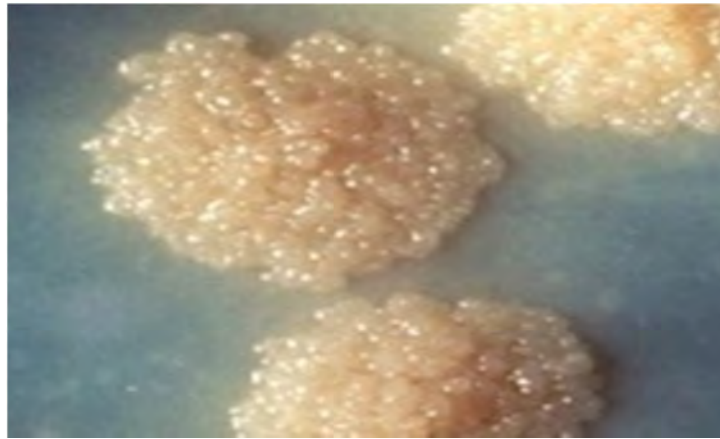


Figure 27: Culture de *mycobacterium tuberculosis* : colonie en 'chou-fleur' [85]

- **Nouvelles méthodes antigéniques par immunochromatographie**

Il existe deux types de tests immunochromatographiques pour recherche du complexe tuberculosis.

Le premier test d'identification après culture repose sur la détection de l'antigène MPT64, protéine incriminée dans la virulence et sécrétée par les mycobactéries du complexe tuberculosis (excepté quelques souches de BCG dont la souche vaccinale Pasteur). Cette détection sur kit unitaire est réalisée en 15 minutes à partir de culture en milieu solide ou liquide. La sensibilité et la spécificité sont de l'ordre de 99 %. Ce test permet d'identifier le complexe tuberculosis, hors BCG, dès la positivité de la culture.

Le deuxième test par immunochromatographie est réalisé directement sur les urines du patient suspect de tuberculose et repose sur la détection de lipoarabinomannane (LAM), composant majoritaire de la paroi bactérienne. Ce test peu coûteux, rapide et facile est utilisé dans les pays en voie de développement à forte incidence de co-infection tuberculose-VIH où il présente une valeur prédictive positive (VPP) de 80 %. Du fait de sa faible spécificité et d'un faible taux de prévalence, ce test ne peut être utilisé en France.

- **Identification des mycobactéries par spectrométrie de masse**

Ces dernières années, la spectrométrie de masse de type matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) a permis de faciliter et d'accélérer l'identification des espèces bactériennes. Cette technique est en cours de développement pour les mycobactéries et permet l'identification du complexe tuberculosis ainsi que l'identification de la majorité des mycobactéries atypiques à partir des cultures.

L'identification à partir d'un milieu solide semble supérieure à celle effectuée à partir d'un milieu liquide. Les auteurs observent 97 % d'identification correcte à partir de milieu solide contre 77 % à partir de milieu liquide. Certains composants du milieu liquide interféreraient sur la qualité des spectres et parfois l'inoculum bactérien serait trop faible. L'innocuité de cette technique a été vérifiée et semblerait être un point important. Les colonies ou la fraction de milieu liquide utilisées sont prétraitées par choc thermique ou par de l'éthanol.

La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF a récemment été couplée dans la technologie iPLEX Gold (Sequenom) à une analyse de polymorphismes génétiques permettant à la fois de différencier les espèces du complexe tuberculosis mais aussi de renseigner l'appartenance à un groupe phylogénétique à des fins épidémiologiques.

- **Méthodes génotypiques**

- o **Diagnostic direct par amplification génique**

De nombreuses techniques, permettant la détection du complexe tuberculosis à partir d'échantillons biologiques, ont été commercialisées et on fait l'objet de nombreuses publications. Récemment, de nouveaux tests associant à la fois détection des MCT et

détection de la résistance à certains antituberculeux ont été développés.

o Test d'hybridation inverse sur bandelettes (MTBDR® plus, Hain LifeScience)

Ces tests correspondent à une amplification multiplex d'ADN couplée à une hybridation sur bandelettes et sont utilisées en routine pour l'identification des mycobactéries, mais aussi pour la détection de la résistance aux antituberculeux.

L'identification par amplification et hybridation se fait en quelques heures à partir de culture. Le complexe tuberculosis peut être mis en évidence par le kit GenoType® Mycobacterium CM/AS (Hain Life Science) dont la technologie cible l'ADNr 23S. L'identification d'espèce au sein du complexe tuberculosis par le test GenoType® MTBC est fondée sur l'analyse du polymorphisme du gène *gyrB*.

Pour ce qui est de la détection de la résistance aux antibiotiques, le principe repose dans un premier temps sur l'amplification de fractions de gènes codant pour la cible des antituberculeux et dans un deuxième temps sur l'hybridation avec des sondes correspondant aux gènes sauvages ou aux gènes mutés présents sur la bandelette. Les kits commercialisés peuvent être utilisés à partir de culture ou d'échantillons positifs à l'examen microscopique, voire négatifs. Le clinicien peut rapidement être informé sur la présence de complexe tuberculosis et sur la sensibilité aux deux antituberculeux majeurs (rifampicine et isoniazide). La première génération de test GenoType® MTBDR plus 1.0 permet en quelques heures et en un seul test de détecter le complexe tuberculosis ainsi que le statut de la résistance à la rifampicine et l'isoniazide, soit à partir d'échantillons avec examen direct positif, ou soit à partir de cultures positives.

Dans les deux cas, la sensibilité de la détection de la résistance à la rifampicine est de 98 % et à l'isoniazide de 87 %. Un screening au niveau d'un fragment de 81 paires de bases (pb) du gène *rpoB* (rifampicin resistance determinig region RRDR) permet de mettre en évidence tout type de mutation connue ou non par le kit. La résistance de bas et haut niveau à l'isoniazide repose sur la recherche des mutations des gènes *inhA* et *katG*. Depuis peu, les prélèvements pulmonaires non bacillifères peuvent être analysés par la nouvelle génération de test GenoType® MTBDRplus 2.0. L'étude de Crudu et al. En zone de moyenne endémie

montre une sensibilité de 79,8 % pour la détection du complexe tuberculosis ainsi qu'une sensibilité de la détection de la résistance de 90 % pour la rifampicine et de 93,5 % pour l'isoniazide.

Dans les pays à forte incidence de tuberculose XDR, le test GenoType® MTBDRsl permet à partir de culture de détecter la résistance aux fluoroquinolones, à l'éthambutol, à l'amikacine et à la capréomycine avec une sensibilité variant de 77,3 à 92,3 %.

o Méthodes d'amplification génique GeneXpert®

Le dispositif X-pert MTB (Céphéide®) est un outil de diagnostic de la tuberculose utilisé à travers le Monde depuis l'année 2004. C'est un système de dépistage rapide complètement automatisé reposant sur la détection moléculaire simultanée du M. tuberculosis et de la résistance à la rifampicine.

Les publications de l'OMS montrent que la résistance à la Rifampicine est rarement observée seule, elle indique généralement une résistance à d'autre antituberculeux notamment à l'isoniazide. Elle est le plus souvent détectée dans des souches de tuberculose multi résistante avec une fréquence supérieure à 95% dans ces isolats.

• Tests en développement

L'amplification génique est également utilisée pour la recherche de petits fragments d'ADN mycobactérien dans l'urine (ADN trans-rénal). En cours de développement depuis quelques années mais non encore commercialisée, cette méthode alternative à l'examen microscopique des expectorations permettrait de détecter à la fois les tuberculoses pulmonaires et extra-pulmonaires, notamment chez les enfants ou les patients infectés par le VIH.

✓ Diagnostic indirecte (IGRA) [102]

Les tests de libération d'interféron gamma (IGRA) et l'intradermo réaction (IDR) visent à mettre en évidence la mémoire immunitaire suite à un contact avec une mycobactérie du complexe tuberculosis.

Les nouveaux tests immunologiques IGRA ont été autorisés par la Haute Autorité de santé à partir de 2006 chez l'adulte.

- **Principe des tests**

L'IFN γ est une des cytokines clé sécrétée par les lymphocytes T en réponse à l'infection à *Mycobacterium tuberculosis*. Les tests IGRA reposent sur la détection de la production d'IFN- par les cellules mononuclées sanguines du patient après contact avec des protéines spécifiques de *Mycobacterium tuberculosis* : ESAT-6, CFP-10 et TB7.7. Ces protéines sont délétées dans les souches de BCG. Deux familles de tests sont disponibles en France : le Quantiféron basé sur la mesure de la production in vitro d'IFN γ par test Elisa (Quantiferon-TB®) et le test appelé T-SPOT-TB® basé sur une technique d'ELISPOT quantifiant le nombre de cellules mononuclées sanguines capables de produire de l'IFN γ en réponse à un contact avec ces différents antigènes. Ces tests, par rapport à l'intradermoréaction à la tuberculine, sont plus spécifiques (90 à 100 %), reproductibles, et ne nécessitent pas que le patient soit revu à 72 heures. Le choix entre les deux tests est plus basé sur un problème de coût ou de disponibilité de test que de véritables arguments scientifiques. La valeur prédictive négative des tests IGRA est de l'ordre de 99,7 % quelle que soit la population étudiée.

Un test immunologique négatif que ce soit une IDR ou un test IGRA ne permet d'éliminer ni une tuberculose maladie, ni de différencier une infection ancienne d'une infection récente. De plus, l'ensemble des résultats doivent être évalués en fonction du statut immunitaire du sujet.

- **Utilisation des tests**

La Haute Autorité de santé, après avoir autorisé en 2006 l'utilisation des tests, a émis de nouvelles recommandations le 1er juillet 2011. Les tests immunologiques ne doivent être utilisés que pour le seul diagnostic de tuberculose latente et uniquement dans l'objectif d'un traitement. Pour le diagnostic de la tuberculose maladie, ces tests ne doivent pas être indiqués en pratique courante mais peuvent toutefois apporter une aide dans certains cas de diagnostic difficile.

Bien que non indiqué pour le diagnostic de la tuberculose maladie, l'intérêt du dosage de l'IFN γ et sa variation sous traitement reste discuté et variable selon la localisation de la maladie.

3.1.3 Imagerie

L'imagerie joue un rôle primordial dans le diagnostic, le traitement et le suivi de la tuberculose, elle permet un gain de temps en orientant le diagnostic devant des aspects radiologiques très évocateurs tout en recherchant d'éventuelles complications même avec des présentations inhabituelles.

3.1.4 Diagnostic sérologique [1]

Les tests sérologiques actuellement commercialisés sont d'interprétation incertaine : leur emploi n'est pas recommandé à l'état actuel.

3.1.5 Diagnostic histologique

Les prélèvements d'origine extra-respiratoire peuvent être analysés dans les mêmes conditions de laboratoire effectuées pour ceux respiratoires: liquides d'épanchement, LCR, urines, biopsies, etc. Sur un plan anatomopathologique, le processus inflammatoire provoque certaines lésions élémentaires qui font évoquer le diagnostic histologique de tuberculose, quel que soit l'organe examiné: lésions caséo-folliculaires.

Ces caractéristiques associent l'apparition de granulomes épithéloïdes et géantocellulaires, et la survenue fréquente d'une nécrose tissulaire particulière typique, la nécrose caséuse (aspect macroscopique de lait caillé, aspect microscopique de nécrose acidophile). Cependant, les aspects sont variés selon le moment évolutif de la maladie et l'état immunitaire de l'hôte : fibrose et calcification de lésions anciennes, liquéfaction puriforme, aspect purement folliculaire sans nécrose, réactions inflammatoires mineures chez le sujet immunodéprimé. Aussi, face à toute situation d'inflammation granulomateuse avec ou sans nécrose, une tuberculose doit être évoquée et faire pratiquer une coloration de Ziehl-Neelsen sur la coupe tissulaire, même si celle-ci est de rentabilité variable.

3.2 Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel doit faire discuter les autres étiologies infectieuses de la granulomatose systémique, dont la tuberculose reste la cause la plus fréquente.

Les granulomatoses regroupent un ensemble de pathologies définies par la présence de lésions histologiques caractéristiques liées au recrutement de macrophages et de lymphocytes. Elles peuvent être déclenchées par un grand nombre de microorganismes pathogènes. Les infections responsables de réactions granulomateuses sont nombreuses:

1) Autres mycobactérioses:

D'autres mycobactériose atypiques peuvent être évoquées devant une lésion granulomateuse. Elles surviennent sur des terrains en général très particuliers.

2) Infections bactériennes ou apparentées: [85, 86, 87]

De nombreuses pathologies bactériennes peuvent être responsables d'une atteinte granulomateuse. Le contexte clinique ou anamnestique est en général évocateur.

-Listeria, Typhoïde et autres salmonelloses, Yersinioses, Syphilis, Maladie de Whipple, Maladie de Lyme, Maladie des griffes du chat

3) Mycoses: Candidose, Cryptococcose et Pneumocystose:

Elles peuvent être responsables d'atteintes granulomateuses localisées ou diffuses.

4) Parasitoses: [88, 89]

-Schistosomoses (Bilharziose), Protozoaires (Leishmanioses, Toxoplasmose).

5) Viroses: [90, 91, 92, 93]

- Hépatites virales, le virus d'epstein-Barr EBV

- CMV, VIH

III. Traitement

Une fois le diagnostic posé, le traitement de la tuberculose répond à des schémas standardisés qui dépendent de la catégorie de la maladie. La tuberculose est ainsi classée selon la localisation, pulmonaire ou extra pulmonaire, la bactériologie, les antécédents de traitement antituberculeux et le statut sérologique vis-à-vis du virus de l'immunodéficience humaine [77].

1. Traitement curatif

Le traitement recommandé par l'OMS pour une TB pulmonaire de patients HIV-négatifs est une quadrithérapie de 6 mois : 2 mois d'isoniazide, rifampicine, pyrazinamide et éthambutol, suivis de 4 mois d'isoniazide et rifampicine avec une dose journalière ou trois administrations par semaine (WHO Guidelines 2009).

1.1 Bilan pré-thérapeutique [48]

Un bilan pré-thérapeutique est nécessaire avant de débiter le traitement. Il s'agit :

- d'une numération formule sanguine (NFS) avec taux de plaquettes.
- d'un bilan biologique hépatique avec transaminases, phosphatases alcalines, bilirubine et gamma glutamine transférase.
- d'un bilan rénal avec la créatinémie et de l'urémie.
- d'un dosage de l'uricémie.
- d'un bilan ophtalmologique avec une acuité visuelle, une vision des couleurs et une campimétrie (étude de la zone centrale du champ visuel).
- d'un examen audiométrique.

1.2 But thérapeutique [48]

Le but du traitement est de :

- Stériliser les foyers infectieux.
- Eviter les complications.
- Eviter les rechutes post thérapeutique.

- Eviter l'émergence de mutants résistants.

1.3 Moyens thérapeutiques

1.3.1 Les antituberculeux [48]

a) Les antituberculeux de première ligne:

➤ Isoniazide (I) :

Il a une activité bactéricide élective sur les mycobactéries surtout en phase de division, il évite l'apparition de résistance en inhibant la synthèse de l'acide mycolique et en attaquant la paroi des micro-organismes sensibles. Il est rapidement absorbé par voie orale et métabolisé par le foie par acétylation, la demi-vie plasmatique est d'une heure chez l'acétyleur rapide à 6 heures chez l'acétyleur lent. Il diffuse dans le liquide céphalorachidien (LCR) et les épanchements séreux, traverse la barrière placentaire et passe dans le lait maternel.

➤ Rifampicine (R):

Antibiotique semi synthétique, bactéricide et stérilisant, il agit en inhibant la synthèse de l'acide ribonucléique dans les micro-organismes. Elle est bien absorbée par voie digestive, le pic plasmatique est atteint en une à deux heures, la demi-vie plasmatique est de deux à quatre heures. Elle est métabolisée rapidement par le foie en désacéthyl-rifampicine et est excrétée dans la bile et les urines. Elle diffuse dans le LCR, surtout en cas de méningite, traverse la barrière fœto-placentaire et passe dans le lait maternel.

➤ Pyrazinamide (P):

C'est un dérivé de la nicotamide, il a une action bactéricide sur le bacille tuberculeux. Il possède une activité essentielle sur les bacilles intracellulaires qui se multiplient lentement.

La résistance secondaire se développe rapidement mais la résistance primaire et croisée avec d'autre antituberculeux est rare. Il est bien absorbé par voie digestive, le pic sérique est atteint en deux heures, sa demi-vie plasmatique est de neuf à dix heures (plus longue en cas d'insuffisance rénale). Il est métabolisé dans le foie en acide pyrazinoïque, et élimine dans les urines. Il diffuse rapidement dans les liquides organiques, les sécrétions et le LCR.

➤ Ethambutol (E) :

Il a une action bactériostatique sur les mycobactéries. Il agit par interférence avec l'Acide Ribonucléique (ARN) pendant la multiplication du bacille tuberculeux. Son absorption est rapide par voie digestive et le pic sérique est de 5 microgrammes/ml deux à quatre heures après son ingestion. Sa demi-vie plasmatique est de six à huit heures (plus longue en cas d'insuffisance rénale). L'Ethambutol est métabolisé en partie par le foie et est éliminé surtout par le rein. Il traverse la barrière fœto-placentaire et diffuse peu dans le LCR (sauf en cas de méningite) et dans les épanchements.

➤ Streptomycine (S)

C'est un antibiotique du groupe des aminosides. Elle a une action bactéricide sur le bacille tuberculeux et est très active en extra cellulaire. Elle traverse la membrane bactérienne et se fixe sur un récepteur ribosomal spécifique. Elle est administrée par injection intra musculaire et le pic sérique est atteint en 90 minutes après l'injection. La demi-vie plasmatique est de deux heures. La majorité de la dose administrée est éliminée dans les urines. La streptomycine diffuse dans les liquides extracellulaires, les épanchements pleuraux et péritonéaux, et traverse la barrière fœto-placentaire.

➤ **Traitement des cas de MDR-TB et XDR-TB**

Les antibiotiques utilisables dans le cas d'une TB résistante sont les antibiotiques de première ligne encore actifs du groupe 1 de l'OMS, pyrazinamide, éthambutol, rifabutine, et les antibiotiques de deuxième ligne. Parmi ces derniers, le groupe 2 avec les agents injectables (aminosides/peptides cycliques), le groupe 3 avec les fluoroquinolones, le groupe 4 avec les agents bactériostatiques (éthionamide, protionamide, acide para-amino-salicylique, cyclosérine et térizidone) et le groupe 5 avec la clofazimine, le linézolide, l'amoxicilline+

acide clavulanique, le tiacétazone, l'imipénème/cilastatine, la clarithromycine et de haute dose d'isoniazide pour les souches résistantes à bas niveau

Le traitement pour les MDR/XDR-TB est moins efficace, plus toxique, plus coûteux et plus long par rapport au traitement pour les souches sensibles (il est recommandé de continuer le traitement pendant au moins 18 mois après la négativation de la culture) (WHO Progress Report 2011). Même dans des conditions optimales, le pourcentage de guérison est bien inférieur à celui des cas de TB à bacilles sensibles traités par quadrithérapie puis bithérapie pendant 6 mois : il fluctue entre 46% et 75% des cas (Espinal, Kim et al. 2000).

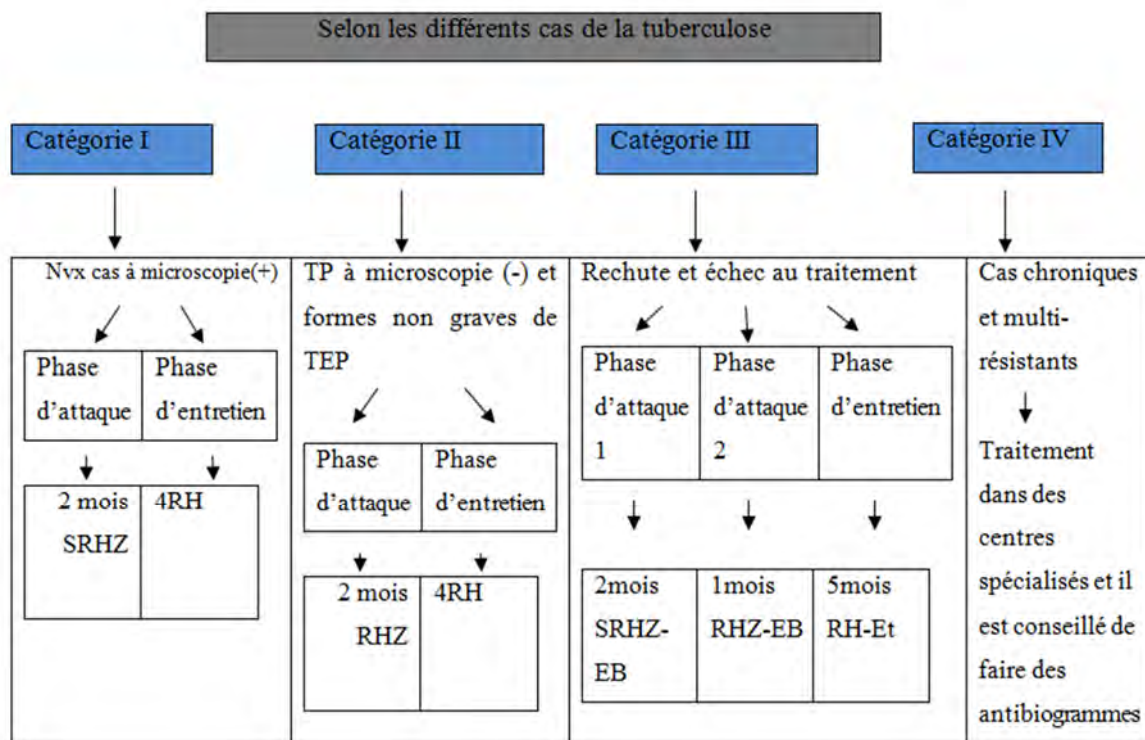


Figure 28: Schéma du traitement curatif des différents cas de la tuberculose (Bencheikh et al 1996)

➤ Effets secondaires des antituberculeux :

Comme toute chimiothérapie, celle de la tuberculose provoque un certain nombre d'effets secondaires. Ceux-ci sont moins fréquents au cours de la chimiothérapie de courte durée.

Ils surviennent généralement lors du premier trimestre du traitement. Une posologie appropriée des médicaments, en fonction du terrain, et un examen clinique, éventuellement complété par un bilan biologique, sont les moyens qui permettent de prévenir et de limiter les effets secondaires des anti-bacillaires.

Les effets secondaires mineurs des anti-bacillaires n'imposent pas l'arrêt du traitement ou du médicament incriminé

➤ Interactions médicamenteuses des antituberculeux.

Lors du traitement de la tuberculose, les anti-bacillaires peuvent entrer en compétition avec d'autres médicaments pris en concomitance.

✓ Si le médicament associé aux anti-bacillaires est indispensable on réajuste son dosage.

✓ Si le médicament associé aux anti-bacillaires n'est pas indispensable : on peut le remplacer ou le suspendre.

La rifampicine et l'isoniazide sont les médicaments antituberculeux qui présentent le plus d'interactions avec d'autres médicaments.

Tableau III: Interactions médicamenteuses des antituberculeux [50]

médicament	effets
Anti-vitamines K	Diminution de l'effet anticoagulant
Contraceptifs oraux	Diminution de l'effet contraceptif
Corticoïdes	Diminution de l'efficacité des corticoïdes
Digitalines	Diminution de l'efficacité des digitalique
Hypoglycémiants oraux	Diminution de l'effet hypoglycémiant
Novobiocine	Risque d'hépatite avec ictère
Phénobarbital	Risque toxique élevé
Benzodiazépine	Diminution de l'effet de la rifampicine
Probénicide	Augmentation de la toxicité de larifampicine

b) Les antituberculeux de seconde ligne :

Les médicaments de seconde intention utilisés pour le traitement des cas de tuberculose à bacilles résistants et multi résistants sont moins efficaces et plus coûteux.

Ces molécules sont kanamycine (KANAMYCINE), amikacine (AMIKLIN), capréomycine (CAPASTAT), Sparfloxacin (ZAGAN), Ofloxacin (OFLOCET), Ciprofloxacin (CIFLOX).

1.3.2 Moyens adjuvants

a) La corticothérapie [78]:

Une corticothérapie initiale (prédnisone 0,5 à 1mg /kg/j) peut être indiquée en cas de miliaire asphyxiante, Péricardite, méningite, péritonite sévère d'évolution prolongée, volumineuses adénopathies compressives..., peu de travaux ont été consacrés à la corticothérapie adjuvante au traitement d'une tuberculose maladie. La péricardite tuberculeuse est la seule indication formelle, proposée selon un schéma progressivement dégressif sur 3 mois. La méningite tuberculeuse au début est une indication reconnue, administrée selon un schéma dégressif de 4 à 6 semaines.

b) Vitaminothérapie B6 [101]:

Elle est indiquée à but préventif chez les dénutris, les alcooliques, les diabétiques, les insuffisants rénaux et les femmes enceintes.

c) Chirurgie et traitements locaux :

- Ponction et/ou drainage: Pleurésie, pyopneumothorax, ascite, abcès froid...
- Chirurgie: Tuberculome du cerveau, bronchectasies étendues, aspergillome intra-cavitaire.

1.4 Conduite du traitement [79]

La conduite du traitement antibacillaire de la tuberculose peut s'avérer difficile à cause du terrain (insuffisance rénale ou hépatique par exemple). Elle tiendra compte:

- Du bilan pré-thérapeutique,
- Des interactions médicamenteuses possibles,
- Du terrain :
 - La femme enceinte
 - Le sujet âgé
 - L'insuffisant rénal

1.5 Les pathologies associées

1.5.1 VIH (virus d'immunodéficience humaine)

Le test rapide du VIH doit être demandé systématiquement en cas de tuberculose. En cas de coïnfection tuberculose-VIH, la Rifabutine est préférée à la Rifampicine.

1.5.2 Malade ayant une insuffisance hépatique [48]

Le bilan hépatique avant traitement, n'est pas systématique, il est indiqué chez les patients suivants: antécédents de pathologies hépatiques, sujets âgés, alcoolique, femme enceinte hépatite virale, HIV, malades sous traitement hépatotoxique. Ce bilan est demandé au cours du traitement devant l'apparition d'un ictère, ou devant des signes mineurs ne régressant pas sous traitement symptomatique (vomissement, prurit.....).

1.5.3 Malade ayant une insuffisance rénale [101]

La posologie des anti-bacillaires à élimination rénale doit être adaptée si l'insuffisance rénale est avancée. Par ailleurs, il est recommandé de surveiller la fonction rénale pendant toute la durée du traitement.

1.5.4 Malade ayant un diabète [81]

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. La prise en charge et le suivi du diabète doit être fait en concertation avec un spécialiste, de préférence en milieu hospitalier. L'insulinothérapie est souvent démarrée ou ajustée pour équilibrer le diabète.

La pyridoxine doit être prescrite pour prévenir les neuropathies secondaires au traitement (à une posologie < 50mg/j).

1.6 Surveillance thérapeutique [101]

L'efficacité du traitement est jugée sur l'évolution des signes cliniques et/ou radiologiques. La fréquence des examens radiologiques dans les cas de tuberculose rénale, osseuse ou urogénitale est fixée par le médecin spécialiste concerné [48].

La surveillance thérapeutique passe par:

- Un bilan pré thérapeutique recherchant l'existence de tares viscérales pouvant exposer à une intolérance aux antituberculeux.
- La recherche des complications du traitement: les manifestations d'intolérance mineure (prurit, arthralgie...), les réactions graves surtout les hépatites toxiques.
- La surveillance de l'efficacité du traitement
- La surveillance de la tolérance du traitement
- La surveillance de l'observance du traitement

2. Traitement préventif

2.1 La vaccination par le BCG

Un vaccin BCG permet de limiter la propagation de la bactérie après une infection par la tuberculose. Le vaccin est généralement administré dans les pays et les groupes où les risques d'infection par la tuberculose sont supérieurs à 1 % chaque année. Il est administré aux nouveau-nés dans ces groupes afin de prévenir la tuberculose et ses complications au cours des premières années de la vie.

Vers de nouveaux vaccins contre la tuberculose [94]:

Un important effort de recherche est en cours pour développer de nouveaux vaccins contre la tuberculose. Une grande partie de ce travail a pour but une meilleure compréhension de l'immun-pathogenèse de la tuberculose en étudiant à la fois l'organisme infectieux et son hôte humain. En effet, la recherche a permis le séquençage du génome complet de *M. tuberculosis*, fournissant ainsi de nouvelles occasions pour aborder les questions de la virulence, la pathogenèse et la réponse immunitaire protectrice.

Parallèlement, de nouveaux vaccins candidats (par exemple, des vaccins sous unitaires, les vaccins à ADN et des souches atténuées des mycobactéries) sont mis au point et testés dans des modèles animaux.

Dans les prochaines années, plusieurs vaccins candidats seront disponibles pour les essais cliniques.

2.2 Le dépistage et le traitement des sujets contact [1]

C'est le moyen de lutte le plus efficace contre la tuberculose car il réduit la transmission du bacille tuberculeux.

2.3 Chimio prophylaxie [101]

La seule chimiothérapie préventive recommandée aujourd'hui consiste à administrer de l'isoniazide seul, tous les jours, à la dose de 5 mg/kg/jr pendant une période de 6 à 9 mois.

Les indications de la chimio prophylaxie antituberculeuse [101]

- ✓ Nouveau-né sans signes cliniques et ou radiologiques évocateurs de tuberculose, et dont la mère présente :
 - Tuberculose pulmonaire contagieuse ou
 - Tuberculose pulmonaire récente (moins de 3 mois) ou
 - Tuberculose pulmonaire aigue ou
 - Tuberculose utérine en fin de grossesse.
- ✓ Nourrisson de mère tuberculeuse et avec IDR positive et absence de signes cliniques et ou radiologiques évocateurs de tuberculose.
- ✓ sujet atteint d'une maladie chronique sous corticoïde ou Immunosuppresseurs.
- ✓ Sujet avec maladie sous anti TNF α .

2.4 L'amélioration du niveau de vie

La tuberculose est une maladie de la pauvreté et des mauvaises conditions d'hygiène. Elle est donc combattue par l'élévation du niveau de vie et par l'éducation sanitaire des populations.

Le thème « s'unir pour mettre fin à la tuberculose » de l'OMS englobe les 4 sous thèmes suivants : (journée mondiale de lutte contre la tuberculose 2016 : s'unir pour mettre fin à la tuberculose. 24 mars 2016)

- o Ensemble, nous préviendrons la tuberculose en éliminant la pauvreté
- o Ensemble, nous dépisterons, traiterons et soignerons mieux la tuberculose
- o Ensemble, nous mettrons fin à la stigmatisation et à la discrimination
- o Ensemble, nous stimulerons la recherche et l'innovation

DEUXIÈME PARTIE:
PARTIE PRATIQUE



I. Matériels et méthodes étudiées

1. Cadre d'étude

Il s'agit de l'institut pasteur du Maroc Casablanca, et plus précisément au sein du laboratoire des mycobactéries et de la tuberculose (LM et TB) : laboratoire de référence nationale

Il a vu le jour au début des années 90, avec les techniques classiques de diagnostic de la tuberculose comme la microscopie, la culture et la pratique des tests de sensibilité aux anti-bacillaires.

Considéré comme laboratoire de référence nationale, il apporte un soutien incontournable au programme national de lutte antituberculeuse (PNLAT).

Le diagnostic biologique de cette maladie ainsi que la réalisation des tests de sensibilité aux anti-bacillaires sont parmi les principales missions de cette entité. Cette dernière participe également à la formation, la supervision et au contrôle du réseau de laboratoires nationaux de la tuberculose.

En plus des activités de santé publique, ce laboratoire mène des recherches appliquées, utilisant ou développant de nouvelles techniques de diagnostic. Il participe aux enquêtes épidémiologiques, entre celles se rapportant à la surveillance de la résistance aux anti-bacillaires.

A l'aide du centre national d'énergie et des sciences techniques et nucléaires (CNESTEN) a Rabat.

2. Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective du 11/11/2015 au 18/04/2016 portant sur 124 cas de tuberculose extra-pulmonaire, faite à partir des registres et résultats pratiques des patients reçus par l'institut pasteur du Maroc et par d'autres laboratoires d'analyses et médecins spécialisés et par autres centres médicaux.

3. Contraintes

- prélèvements des échantillons extra-pulmonaires rares et dans un temps espacé
- difficulté à connaître pour certains prélèvements extra-pulmonaires la localisation anatomique.

4. Collecte de données

Pour chaque patient, on a déterminé dans un tableau les informations de recherche suivantes :

- données concernant le patient : identité (Nom, prénom, âge, sexe, ...), données démographiques, données anamnestiques, cliniques et para-cliniques
- le service médical transmetteur (médecins, laboratoire, Centres, ...)
- la nature et origine biologique du prélèvement
- le résultat d'analyse obtenu par la méthode classique (culture)
- résultat d'analyse obtenu par la méthode moléculaire (PCR)

Les données cliniques et para cliniques ont été recueillies sur la fiche d'exploitation : voir annexes 1.

5. Exploitation des données et analyses statistiques

Nous avons recueilli pour chaque malade tous les renseignements disponibles et nécessaires pour l'établissement d'une fiche de recueil de données, et d'une base de données par laquelle et à l'aide du logiciel Excel on a pu effectuer des diagrammes et graphiques qui illustrent les résultats accumulés.

6. Critères d'exclusion

Ont été exclus de cette étude, les cas où les informations de données de base sont incomplètes. (8 cas).

7. Les patients

Entre le 11 novembre 2015 au 18 avril 2016 plus que 20 patients ont présenté une tuberculose extra-pulmonaire dans le service.

Dans notre étude on a étudié 124 cas (rassemble les cas récents et anciens). L'âge moyen de ces patients était de 35 ans. La tranche d'âge la plus représentée est celle des jeunes adultes.

La plupart des patients ont été de la grande ville de Casablanca, 3 de la ville de Meknès ,2 de la ville de Marrakech, et 2 de Jerrada, 1 de safi et 1 de Beni Mellal.

Parmi les secteurs transmetteurs :

Secteurs privés : médecins, cliniques (clinique jerrada, neuro-clinique de Casa), laboratoires (Labo fournini)

Secteurs publics : [Dr Wayne CDTRMR HH, ASMADI AC, HH TAHIR, BMSO Bennouna, AAMMAL BEO, CP AIN BORJA, FDS, CHU, hôpital Asfi Dr Maroun].

8. Les échantillons

124 prélèvements extra-pulmonaires ont été analysés avec exclusion de huit cas. Ces prélèvements comprenaient 55 ponctions (43 ganglionnaires et 7 pleurales, 4 articulaires, 1 cutanée), 26 pus (22 ganglionnaires, 3 articulaires, 1 pleurale), 16 biopsies (15 ganglionnaires, 1 articulaire), 16 urines, et 3 selles.

9. Méthodes

9.1 Méthode de diagnostic classique par microscopie et culture sur un milieu solide

À partir des prélèvements recueillis, des frottis sont confectionnés sur les lames puis colorées selon la méthode de Zeihl-Neelson. Cette dernière est une méthode classique qui consiste en la coloration des frottis par la fushine, une décoloration par un mélange acide-alcool et enfin une contre coloration par le bleu de méthylène (carbonelle et carpentier. 1995) [23].

L'intensité bacillaire est notée pour chaque examen microscopique pour suivre la charge mycobactérienne chez les patients au cours du traitement [23].

Les échantillons seront ensuite misent en culture, sur un milieu solide à base d'œuf (milieu de Lowenstein Jensen).

9.2 Diagnostic de la tuberculose extra pulmonaire par PCR

• Principe de l'amplification d'ADN bactérien par PCR

La technique d'amplification en chaîne par polymérase (polymerase chain reaction [PCR]) permet l'amplification d'une séquence d'acide désoxyribonucléique (ADN). Elle emploie des amorces d'ADN qui s'hybrident spécifiquement à une cible. Une enzyme ADN polymérase permet de recopier l'ADN cible à partir de ces amorces. Cette étape, répétée une trentaine de fois, aboutit à une amplification exponentielle de la cible qui n'en devient que mieux détectable. La détection est réalisée a posteriori par les techniques classiques d'hybridation moléculaire employant des sondes spécifiques, ou en temps réel à l'aide de marqueurs fluorescents. L'utilisation d'une transcriptase inverse qui transforme l'acide ribonucléique (ARN) en ADN avant les cycles de PCR peut permettre l'amplification d'ARN (RT-PCR). Cette méthode mise au point en 1985 a révolutionné le diagnostic des maladies infectieuses mais aussi des maladies génétiques et des cancers [97].

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes essentielles :

- Une dénaturation d'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent
- Une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée
- Une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase.

Ce cycle est répété plusieurs fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible (la durée d'un cycle est de l'ordre de la minute).

- **Protocole de l'amplification par PCR (IS6110 et MYITS)**

a) Amorces utilisées

Pour chaque échantillon ainsi que pour le contrôle positif, les amplifications à la fois de la séquence d'insertion IS6110 et de l'espace inter-génique 16S-23S ont été réalisées. Deux paires d'amorces ont été utilisées lors des réactions de PCR (tableau IV).

Tableau IV: Amorces Utilisées et leurs caractéristiques.

Cible	Amorce	Séquence	Tm	Longueur du fragment amplifié
MYITS	MYITS For	GATTGGGACGAAGTCGTAACAAG	60°C	350-500pb
	MYITS Rev	AGCCTCCCACGTCCTTCATCGGCT		
IS6110	IS6110 For	CCTGCGAGCGTAGGCGTCGG	65°C	123 pb
	IS6110 Rev	CTCGTCCAGCGCCGCTTCGG		

Chaque amorce à une température de fusion qui lui est spécifique, elle dépend de sa composition en bases, elle est calculée suivant la formule simplifiée suivante:

$$T_m = 4(C+G) + 2(A+T)$$

Avec Tm: melting temperature ou température de fusion

b) Préparation du mélange réactionnel :

Chaque réaction de PCR est réalisée dans un volume final de 25 µl. la composition du mélange réactionnel est représentée dans le tableau suivant:

Tableau V: Composition du mélange réactionnel

Composant	Volume pour une réaction
Eau distillée stérile	16.37 µl
Tampon 10X	2.5 µl
MgCl ₂ 25mM	1 µl
dNTP's (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 2,5 mM chacun	2 µl
Amorce For (10µM)	0.5 µl
Amorce Rev (10µM)	0.5 µl
Taq DNA polymerase (5U/µl)	0,125 µl

Le mélange réactionnel est préparé dans des tubes Eppendorf 1,5 µl, puis un volume de 23 µl est distribué dans des tubes à PCR de 0,2 ml, 2 µl de l'ADN chromosomique est par la suite rajouté dans les tubes correspondants. La souche H37Rv est utilisée comme contrôle positif (2µl) alors que pour le contrôle négatif, l'ADN est remplacé par 2 µl d'eau distillée stérile.

Les tubes à PCR sont par la suite placés dans le thermo-cycleur (Applied Biosystems GeneAmp® PCR System 9700).

c) Amplification

- **Protocole d'amplification de l'IS6110 :**

Après une dénaturation de 2 minutes à 95°C qui permettra de dénaturer les fragments d'ADN et d'activer la Taq polymérase, 35 cycles de PCR sont réalisés et comportent chacun, une dénaturation à 95°C pendant 1 minute, une d'hybridation des amorces à 65°C pendant 1 minute, et une extension à 72°C pendant 1 minute. À la fin du dernier cycle une élongation supplémentaire à 72°C est réalisée pendant 10 minutes.

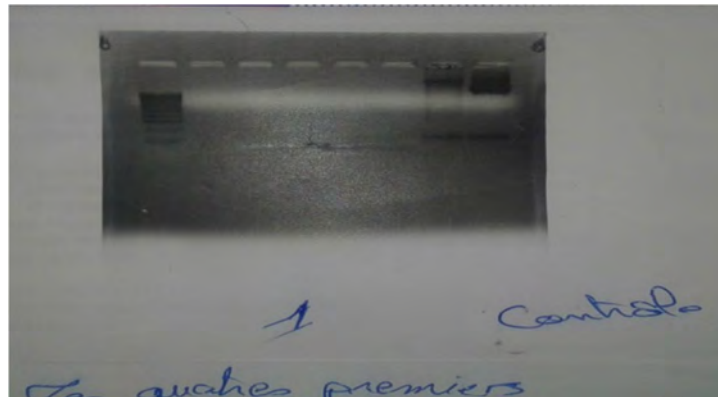
- **Protocole d'amplification de MYITS :**

Après une dénaturation de 2 min à 95°C qui permettra de dénaturer les fragments d'ADN et d'activer la Taq polymérase, 35 cycles de PCR sont réalisés et comportent chacun, une dénaturation à 95°C pendant 30 secondes, une hybridation des amorces à 60° C pendant 45 secondes , et une extension à 72°C pendant 45 secondes. À la fin du dernier cycle une élongation supplémentaire à 72°C est réalisée pendant 10 minutes.

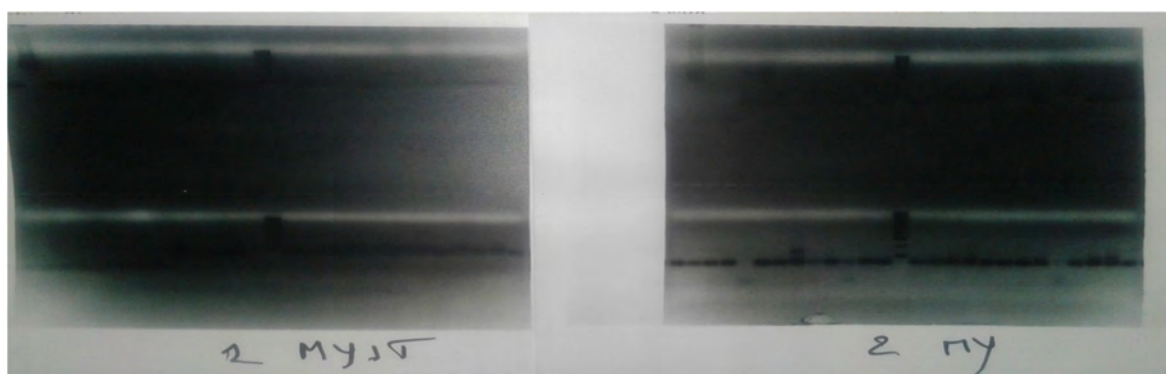
d) Electrophorèse sur gel :

L'amplification génique est confirmée par une électrophorèse sur gel d'agarose 1.5%. Un volume de 12µl du produit de PCR est mélangé avec 3µl du tampon de chargement (contenant un alourdisseur « glycérol » entraînant l'ADN au fond des puits et le bleu de bromophénol permettant de suivre la migration) puis déposé sur gel d'agarose 1.5% contenant 3 µl du bromure d'Ethidium (10 mg/ml) (agent s'intercalant entre les bases d'ADN pour émettre de la fluorescence sous lumière UV). Un volume de 3µl du marqueur de taille est

également déposé dans un puits du gel. La migration est réalisée pendant 90min à un courant de 100V dans une cuve d'électrophorèse contenant le tampon de migration TBE 0.5X. La composition du tampon de chargement et du tampon TBE sont reportés dans l'annexe 1.



Révélation du génome tuberculinique par électrophorèse (méthode IS6110)



Révélation du génome tuberculinique par électrophorèse (méthode MYITS)



RÉSULTATS



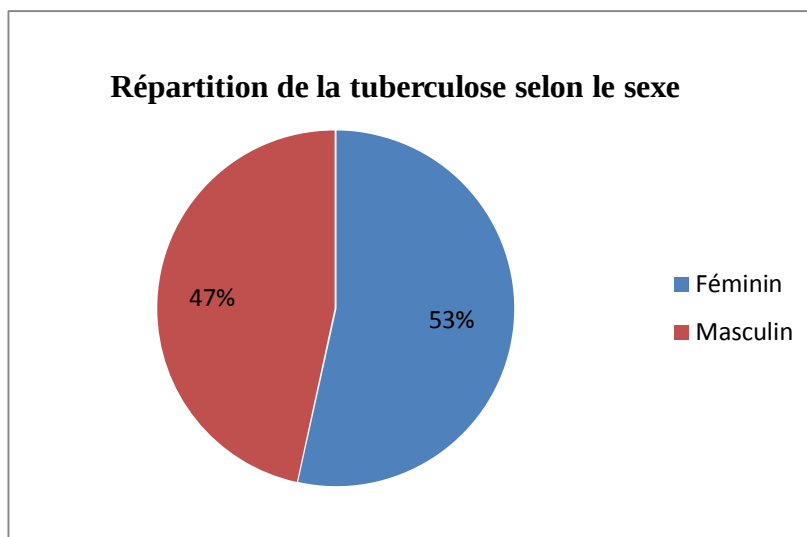
I. Résultats globaux

1. Epidémiologie

1.1 Répartition de la population générale selon le sexe

Tableau VI: Répartition selon le sexe

sexe	nombre	fréquence(%)
Féminin (1)	62	53,45%
Masculin (2)	54	46,55%
total	116	100,00%

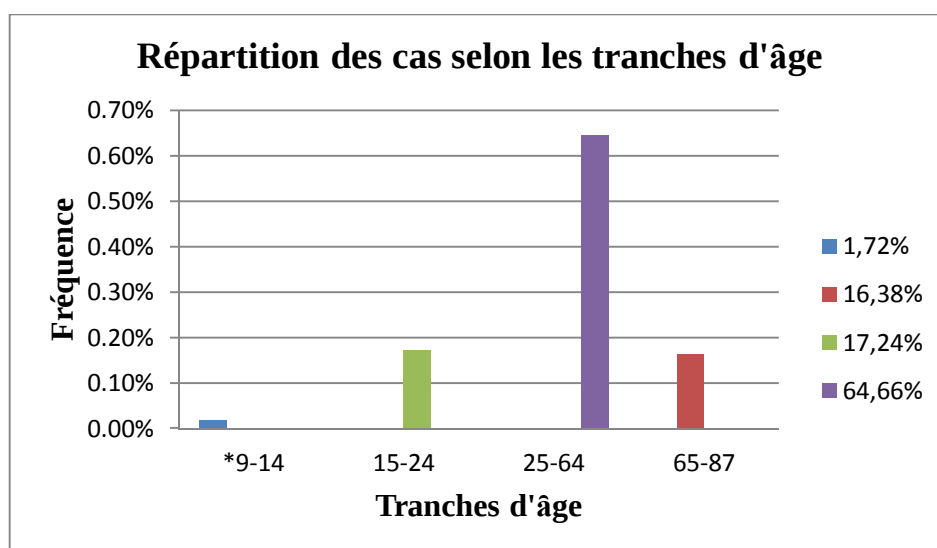


On note une prédominance féminine (53,45% des cas), avec une sex-ratio de 0,87

1.2 Répartition selon l'âge

Tableau VII: Répartition selon les tranches d'âge

Catégorie	Age (ans)	Nombre	Fréquence (%)
Enfants	9-14	2	1,72%
Adolescents	15-24	19	17,24%
Adultes	25-64	76	64,66%
Ainés	65-87	19	16,38%
	totale	116	100%



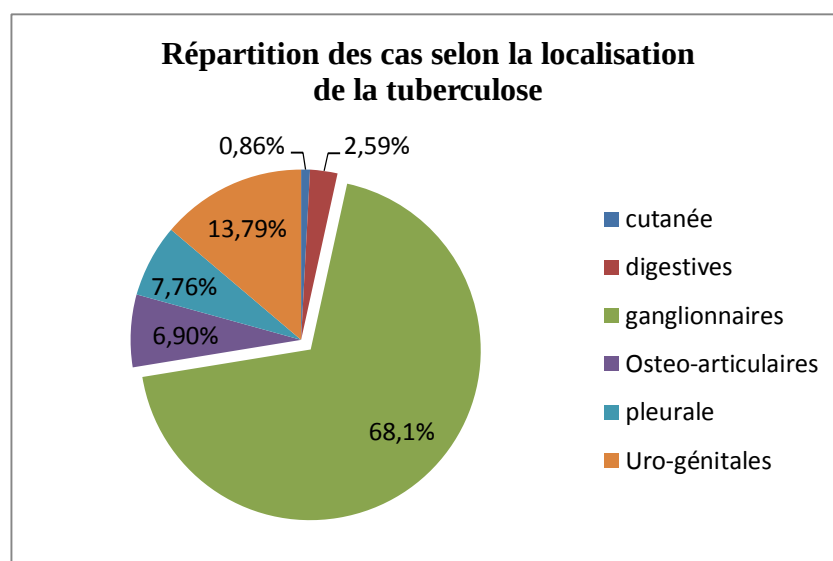
On constate que la moyenne d'âge était de 35 ans. Et la tranche d'âge (25-64 ans) était la plus représentée.

2. Aspects cliniques

2.1 Répartition selon Le type de localisation de la tuberculose

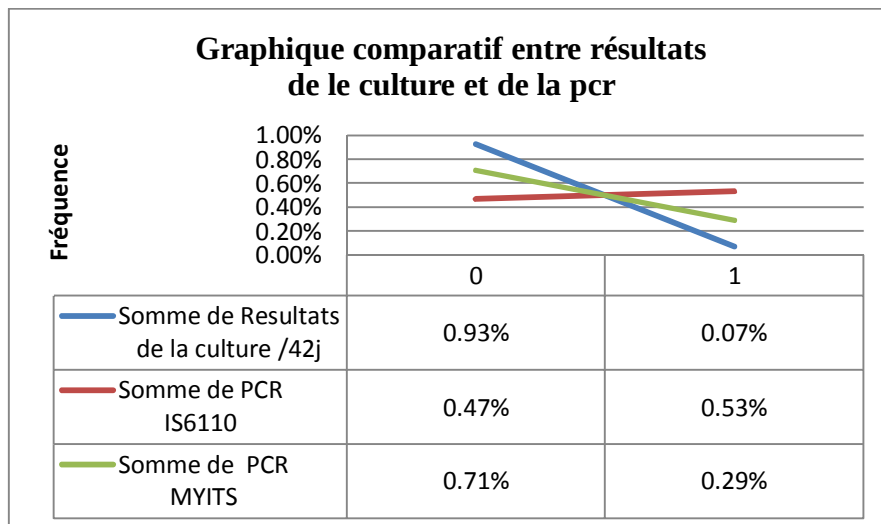
Tableau VIII: Répartition de la maladie selon la localisation

localisations	femmes	hommes	totale	fréquence (%)
ganglionnaires	46	33	79	68,10%
pleurale	4	5	9	7,76%
Uro-génitales	7	9	16	13,79%
Osteo-articulaires	4	4	8	6,90%
digestives	1	2	3	2,59%
cutanée	0	1	1	0,86%
Total	62	54	116	100,00%



On note que la tuberculose ganglionnaire est la plus répandue par comparaison avec les autres localisations.

3. Comparaison générale des résultats entre la méthode classique (culture) et moléculaire conventionnelle (PCR)

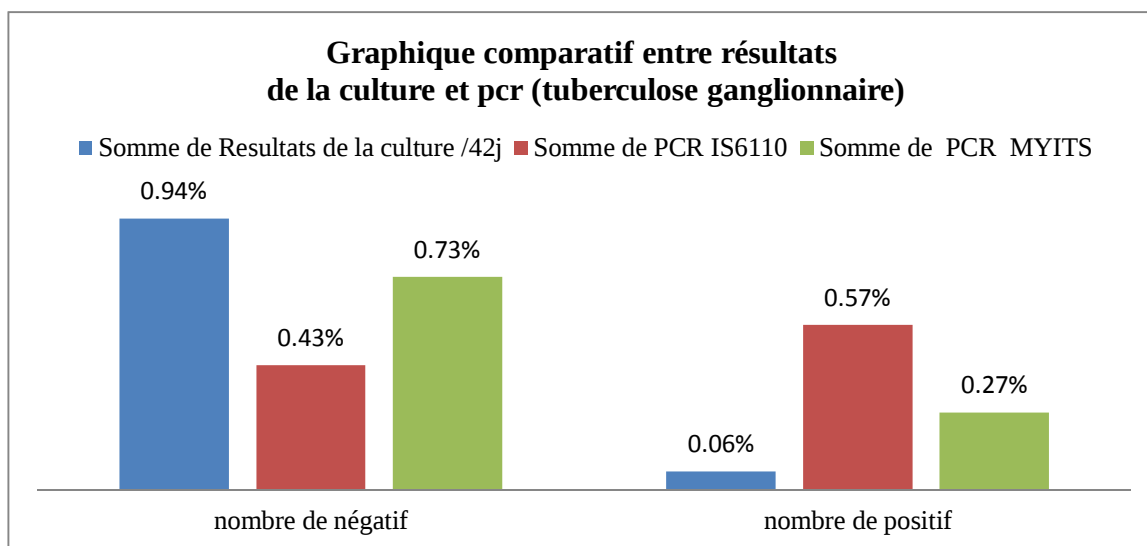


À partir du graphique on observe que la plupart des résultats positifs (1) est obtenue par la méthode PCR IS6110.

4. Comparaison des résultats entre la méthode classique (culture) et moléculaire conventionnelle (PCR) selon le type de la localisation

Tableau IX: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose ganglionnaire

Tuberculose ganglionnaire	Résultats de la culture /42j	PCR IS6110	PCR MYITS
nombre de négatif (0)	74	34	58
nombre de positif (1)	5	45	21



On constate que la méthode PCR donne plus de positifs que la méthode classique.

Tableau X: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose pleural

Tuberculose pleural	Résultats de la culture /42j	PCR IS6110	PCR MYITS
nombre de négatif (0)	8	4	6
nombre de positif (1)	1	5	3

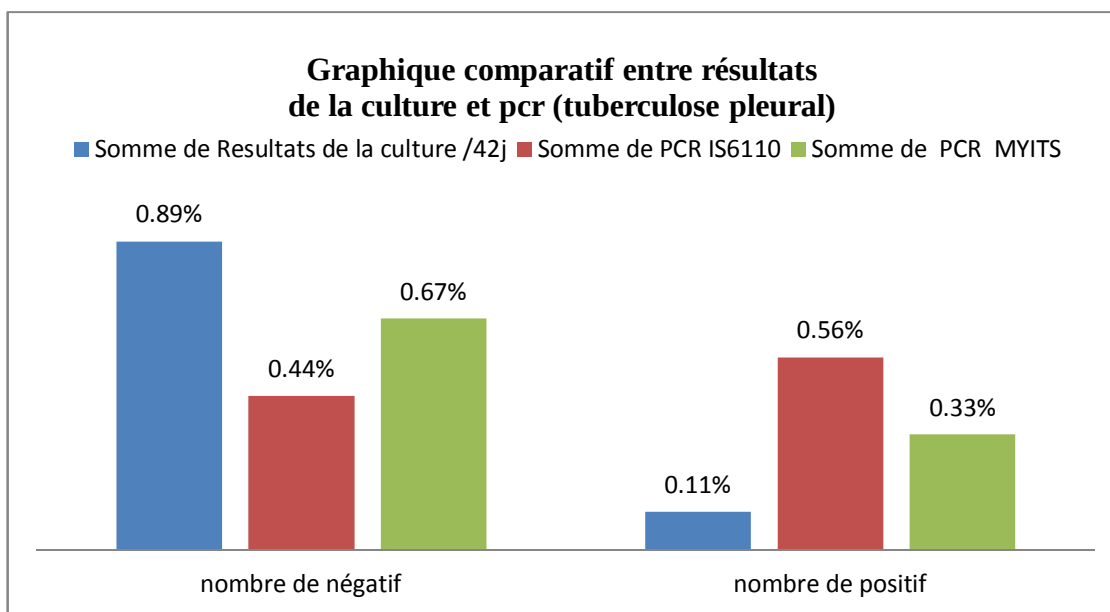


Tableau XI: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose rénale

Tuberculose rénale	Résultats de la culture /42j	PCR IS6110	PCR MYITS
nombre de négatif (0)	15	7	11
nombre de positif (1)	1	9	5

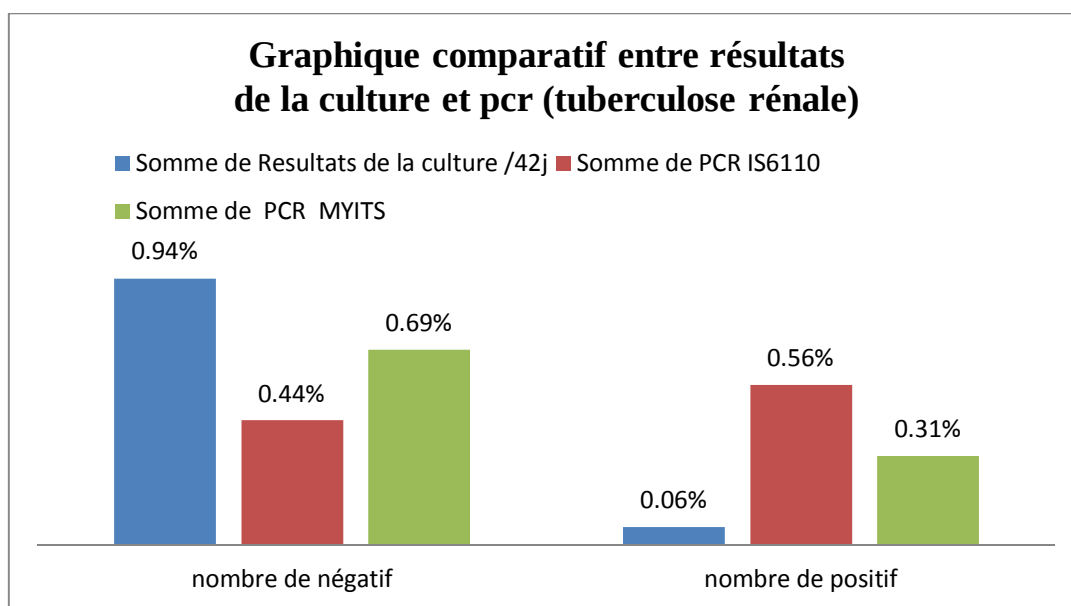


Tableau XII: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose osteo-articulaire

Tuberculose osteo-articulaire	Résultats de la culture /42j	PCR IS6110	PCR MYITS
nombre de négatif (0)	7	6	3
nombre de positif (1)	1	2	5

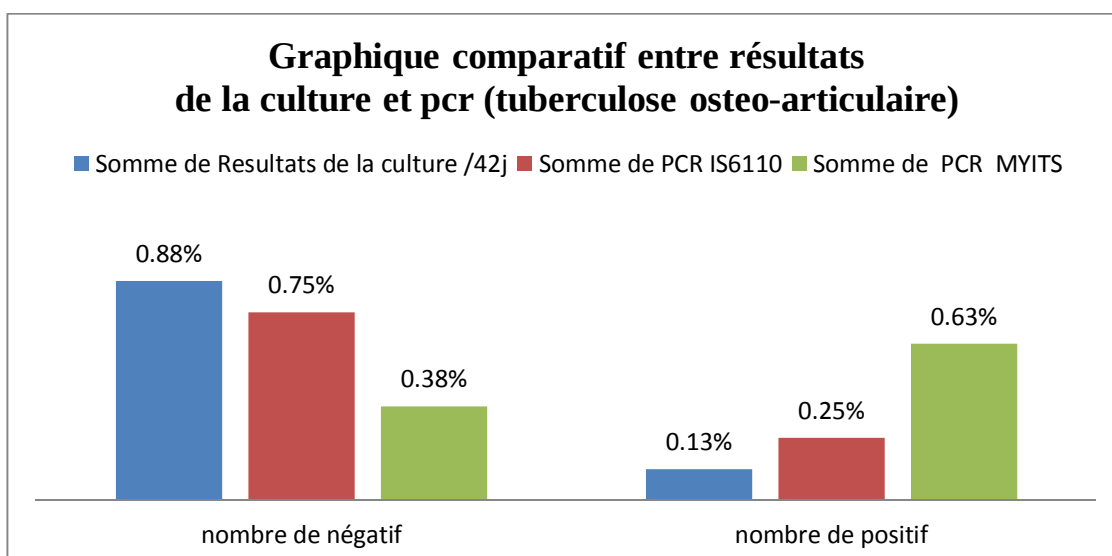


Tableau XIII: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose digestive

Tuberculose digestive	Résultats de la culture /42j	PCR IS6110	PCR MYITS
nombre de négatif (0)	3	2	3
nombre de positif (1)	0	1	0

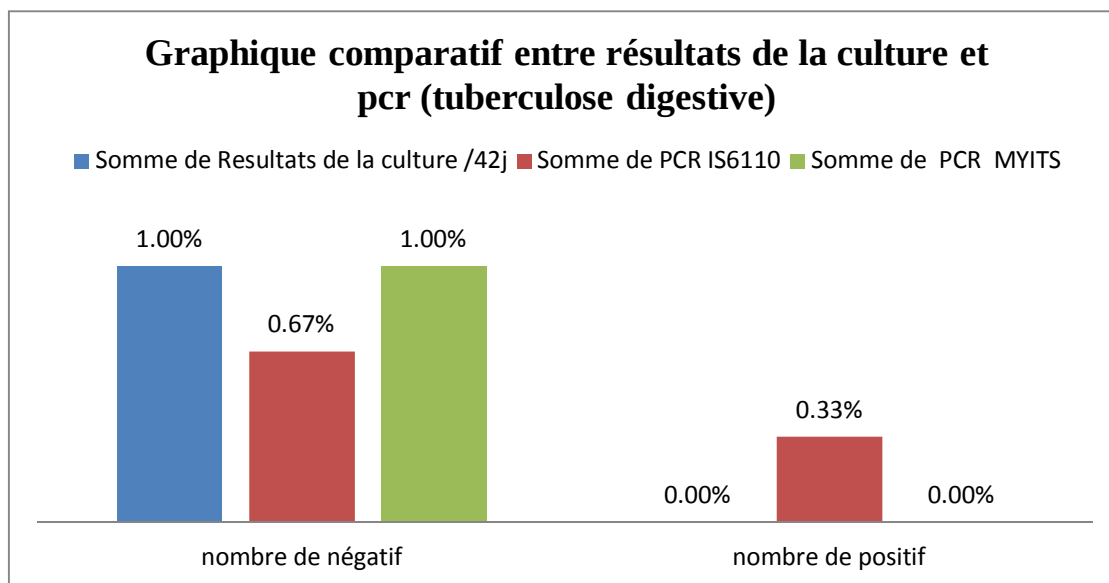
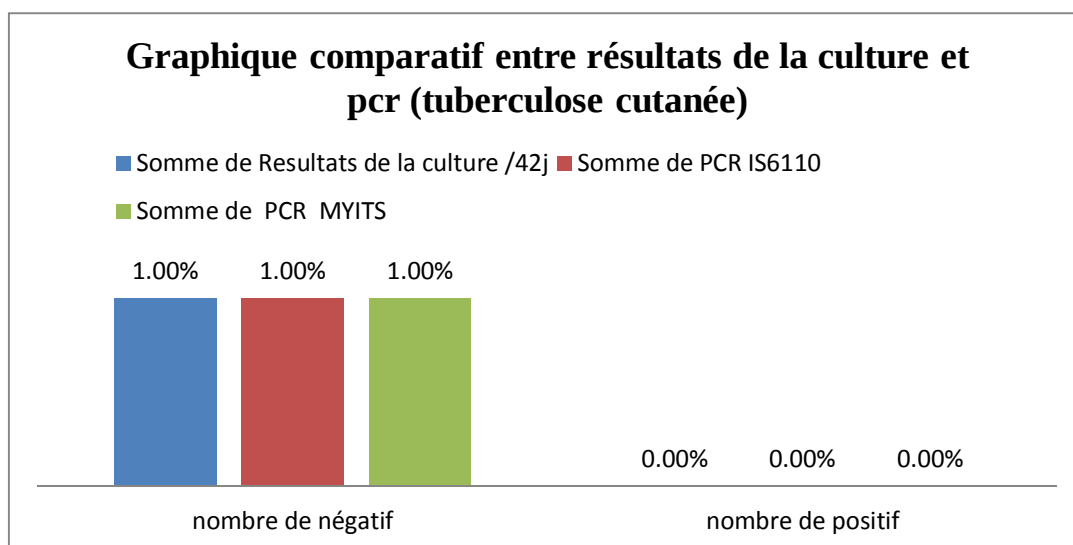


Tableau XIV: Résultats de la culture et de la PCR de la tuberculose cutanée

Tuberculose cutanée	Résultats de la culture /42j	PCR IS6110	PCR MYITS
nombre de négatif (0)	1	1	1
nombre de positif (1)	0	0	0



On observe que la plupart des résultats positifs sont obtenus par la PCR et plus précisément la méthode de l'IS6110.

5. Calcule de sensibilité ; spécificité et les paramètres statistiques de la méthode PCR IS6110

On a 116 patients qui révèlent les symptômes indicatifs d'une tuberculose extra-pulmonaire probables ; et que leurs prélèvements sont véhiculés à l'institut Pasteur pour un diagnostic biologique classique. Donc on dispose d'une population de 116 malades.

On va utiliser comme référence les résultats confirmés de la méthode classique (la culture)

Les signes	Résultats de la culture
Patient malade (+)	8
Patient non malade (-)	108

a) Les définitions

- **La prévalence** : est le pourcentage d'individus atteint de la maladie dans la population étudiée.
- **La sensibilité** : est la probabilité que le signe soit présent chez les individus atteints par la maladie = % des vrais positifs (%VP).
- **La spécificité** : est la probabilité que le signe soit absent chez les individus non atteints par la maladie = % des vrais négatifs (%VN).
- **La valeur prédictive positive (VPP ou PPV)**: est la probabilité que le patient ; dont le test est positif ; soit effectivement malade = nombre des vrais positifs sur l'ensemble des personnes positives au test.
- **La valeur prédictive négative (VPN ou NPV)**: est la probabilité que le patient ; dont le test est négatif ; soit effectivement non malade = nombre des vrais négatifs sur l'ensemble des personnes négatives au test.

- **Le vrai positif (VP)** = le test est positif et le patient présente la maladie.
- **Le vrai négatif (VN)** = le test est négatif et le patient ne présente pas la maladie.
- **Le faux positif (FP)** = le test est positif et le patient ne présente pas la maladie.
- **Le faux négatif (FN)** = le test est négatif et le patient présente la maladie.

b) Le calcule proprement dit :

Les signes	Patient malade (+)	Patient non malade (-)	Total
PCR IS6110 (+)	5 Vrais positifs	57 Faux positif	62
PCR IS6110 (-)	3 Faux négatif	51 Vrais négatifs	54
Total	8	108	116

La prévalence = nombre total de patients malades / l'ensemble de la population % = $8 \times 100 / 116 = 6.9\%$

Les vrais positifs (VP) = 5 (patients malades (+) et test (+)).

Les vrais négatifs (VN) = 51 (patients non malades (-) et test (-)).

Les faux positifs (FP) = 57 (patients non malades (-) et test (+)).

Les faux négatifs (FN) = 3 (patients malades (+) et test (-)).

La sensibilité = nombre des vrais positifs (VP) / nombre total de patients malades (VP+FP)
% = $5 \times 100 / 8 = 62.5\%$

La spécificité = nombre des vrais négatifs (VN) / nombre total de patients non malades (VN+FN) % = $51 \times 100 / 108 = 47.2\%$

La valeur prédictive positive (VPP ou PPV) = nombre des vrais positifs (VP) / nombre total des positifs du test (VP+FP) % = $5 \times 100 / 62 = 8.06\%$

La valeur prédictive négative (VPN ou NPV) = nombre des vrais négatifs / nombre total des négatifs du test (VN+FN) % = $51 \times 100 / 54 = 94.4\%$

L'efficacité du test = indice de youden = sensibilité (/100) + spécificité (/100) - 1 = 0.1*

*Indice se rapproche de 1 = test efficace

* indice négatif = test inefficace

Coefficient de yule Q = l'intensité de la liaison entre les deux variables (maladie et signe)

$$= [(VP \times VN) - (FP \times FN)] / [(VP \times VN) + (FP \times FN)] = 0.2$$

6. Calcule de sensibilité ; spécificité de la méthode PCR IS6110 pour les différentes localisations

Les signes ganglionnaires	Patient malade (+)	Patient non malade (-)	Total
PCR IS6110 (+)	3 Vrais positifs	0 Faux positif	3
PCR IS6110 (-)	2 Faux négatif	74 Vrais négatifs	76
Total	5	74	79

Sensibilité PCRIS6110 = 60% Spécificité = 100%

VPP = 100%

VPN = 97.37%

Iy = 0.6

Q = 1 (0.7-1) très fort

Les signes pleurales	Patient malade (+)	Patient non malade (-)	Total
PCR IS6110 (+)	1 Vrais positifs	4 Faux positif	5
PCR IS6110 (-)	0 Faux négatif	4 Vrais négatifs	4
Total	1	8	9

Sensibilité PCRIS6110 = 100% Spécificité = 50%

VPP = 20%

VPN = 100 %

Iy = 0.5

Q = 1 (0.7-1) très fort

Les signes rénales	Patient malade (+)	Patient non malade (-)	Total
PCR IS6110 (+)	1 Vrais positifs	8 Faux positif	9
PCR IS6110 (-)	0 Faux négatif	7 Vrais négatifs	7
Total	1	15	16

Sensibilité PCRIS6110 = **100%** Spécificité = **46.8%**

VPP = **11.1%** VPN = **100 %** Iy = **0.5** Q = **1 (0.7-1)** très fort

Les signes Ostéo-articulaire	Patient malade (+)	Patient non malade (-)	Total
PCR IS6110 (+)	0 Vrais positifs	2 Faux positif	2
PCR IS6110 (-)	1 Faux négatif	5 Vrais négatifs	6
Total	1	7	8

Sensibilité PCRIS6110 = **0%** Spécificité = **71.4%**

VPP = **0%** VPN = **83.3%** Iy = **- 0.3** Q = **-1 (pas de liaison)**

Les signes digestifs	Patient malade (+)	Patient non malade (-)	Total
PCR IS6110 (+)	0 Vrais positifs	1 Faux positif	1
PCR IS6110 (-)	0 Faux négatif	2 Vrais négatifs	2
Total	0	3	3

Sensibilité PCRIS6110 = **0%** Spécificité = **66.7%**

VPP = **0%**

VPN = **100%**

Pour la forme de la tuberculose cutanée ; la spécificité est de **100%**

7. Calcule de sensibilité ; spécificité de la méthode PCR MYITS

Pour la méthode de PCR MYITS (espace inter-génique) ont ce procède de la même manière sauf que dans notre étude on s'intéresse à la méthode de la PCRIS6110.

Les signes	Patient malade (+)	Patient non malade (-)	Total
PCR MYITS (+)	5 Vrais positifs	29 Faux positif	34
PCR MYITS (-)	3 Faux négatif	79 Vrais négatifs	82
Total	8	108	116

La prévalence = nombre total de patients malades / l'ensemble de la population % = $8 \times 100 / 116 = 6.9\%$

Les vrais positifs (VP) = 5 (patients malades (+) et test (+)).

Les vrais négatifs (VN) = 79 (patients non malades (-) et test (-)).

Les faux positifs (FP) = 29 (patients non malades (-) et test (+)).

Les faux négatifs (FN) = 3 (patients malades (+) et test (-)).

La sensibilité = nombre des vrais positifs (VP) / nombre total de patients malades (VP+FP) % = $5 \times 100 / 8 = 62.5\%$

La spécificité = nombre des vrais négatifs (VN) / nombre total de patients non malades (VN+FN) % = $79 \times 100 / 108 = 73.1\%$

La valeur prédictive positive (VPP ou PPV) = nombre des vrais positifs (VP) / nombre total des positifs du test (VP+FP) % = $5 \times 100 / 34 = 14.7\%$

La valeur prédictive négative (VPN ou NPV) = nombre des vrais négatifs / nombre total des négatifs du test (VN+FN) % = $79 \times 100 / 82 = 96.3\%$

L'efficacité du test = indice de youden = sensibilité (/100) +spécificité (/100)-1 = **0.36***

*Indice se rapproche de 1 = test efficace

* indice négatif = test inefficace

Coefficient de yule Q = l'intensité de la liaison entre les deux variables (maladie et signe)

= [(VP×VN) - (FP×FN)] / [(VP×VN) + (FP×FN)] = **0.64**

Q = (0.50-0.69) l'intensité est forte



DISCUSSION



DISCUSSION

1. Aspects épidémiologiques

a) Fréquence

La tuberculose reste l'une des maladies infectieuses les plus répandues dans le monde, l'OMS estime qu'un tiers de la population mondiale (environ 2 milliards d'individus) est infecté par le bacille tuberculeux [101].

Dans notre série, nous avons recensé 116 cas de tuberculose extra-pulmonaire confondues entre 11/11/2015 et 18/04/2016 au sein de l'institut pasteur du Maroc, à Casablanca, avec une incidence d'environ 2 à 17 cas par mois.

D'une manière générale, la fréquence de la TEP est sous-estimée dans notre continent. Compte tenu d'une part de la faiblesse des plateaux techniques qui ne permet pas de faire le diagnostic de certaines localisations tuberculeuses, d'autre part, les cas de TEP se répartissent dans différentes spécialités [1].

D'autres auteurs comme C. Perrone et coll. à Paris, Soriano à Barcelone avaient rapporté des fréquences variant entre 63% et 93% des tuberculoses ayant des manifestations extra-pulmonaires: ganglionnaires, hépatiques, péritonéales, péricardiques, neuro-méningées et urogénitales [1].

L'analyse des fréquences relatives à chaque localisation montre globalement que les formes pleurales et ganglionnaires sont plus fréquentes suivies de la forme péritonéale dans notre série [1].

b) Sexe :

La nette prédominance féminine retrouvée dans notre étude, s'explique en partie par un mode de vie différent de chaque sexe (consultation plus précoce pour des raisons esthétiques [13]. dans le cas d'une atteinte ganglionnaire chez les femmes, contact avec les sujets malades, fréquence de déplacement de chaque sexe.....)

- la vie sociale des femmes marocaines favorise le contact avec des sujets atteints
- la nature des tâches féminine peu ou pas sécurisées (le ménage,...).

c) Age :

Tableau XV : Répartition selon les tranches d'âge

Catégorie	Age (ans)	Nombre	Fréquence (%)
Enfants	9-14	2	1,72%
Adolescents	15-24	19	17,24%
Adultes	25-64	76	64,66%
Aînés	65-87	19	16,38%
	totale	116	100%

La quasi-totalité des études menées en Europe, aux USA et à Madagascar s'accordent à reconnaître que la TEP est une affection de l'adulte jeune dont l'âge moyen est compris entre 20 et 40 ans.

Nos résultats montrent la prédilection de la maladie pour la population d'adultes jeunes, ceci pourrait être dû à une diversité dynamique qui caractérise ce groupe (travail collectif,.....). Cependant, la maladie n'exclut ni les enfants ni les adolescents ni les sujets âgés. Nos résultats concordent avec ceux donnés par les autres littératures.

2. Aspect clinique :

Localisation

On constate que les formes ganglionnaires et uro-génitales ont été plus fréquentes suivies des formes pleurales.

Et ce résultat concorde avec la littérature : la tuberculose ganglionnaire constitue avec

l'atteinte pleurale, une des formes les plus fréquentes de tuberculose extra-pulmonaire. La prévalence de la TG est plus élevée dans les pays en développement par rapport aux pays développés. Elle est de 69,5% dans des études réalisées en Éthiopie et en Tanzanie [13].

- Tuberculose ganglionnaire

La PCR, indiquée quand on suspecte un diagnostic de lymphome ou de malignité ou quand le diagnostic n'a pas été possible avec l'aspiration à l'aiguille, augmente considérablement les performances diagnostiques et rend la biopsie-exérèse ganglionnaire rarement nécessaire [25].

Selon nos résultats la PCR montre plus performante que la culture et donne plus de résultats positifs.

- Tuberculose pleurale

La PCR est très spécifique pour le diagnostic d'épanchements tuberculeux mais sa sensibilité est variable [25]. Cela est bien évident dans nos résultats.

- Tuberculose urogénitale

Le diagnostic repose sur l'examen bactériologique des urines et la PCR [25].

- Tuberculose ostéo-articulaire

La PCR peut être indiqué dans ce cas.

- Tuberculose digestive

L'intérêt de la PCR reste à évaluer [25].

Même remarques pour notre étude puisque la culture a donnée trois cas négatifs pour les trois prélèvements, contre un cas positif pour la PCR (qui peut être un faux positif).

- Tuberculose cutanée

Dans ce cas on a un seul prélèvement, à culture négatif et ce qui est bien remarquable que la PCR aussi a donné le même résultat donc la PCR peut être un moyen de diagnostic fiable pour la tuberculose cutanée.

3. L'interprétation des calcules

Le taux de maladie présent dans cette population est de 6.89%. Et la somme de la sensibilité et de la spécificité est supérieure à 100 % donc le test de PCRIS6110 est à retenir en considération.

Le test dépiste 5 cas positifs et 3 cas négatifs parmi les huit malades car sa sensibilité est de 62.5 % on peut noter 62 %. Si on avait 100 cas malades le test va dépister 62 cas positifs et 38 cas négatifs.

Le test trouve aussi 57 cas positifs et 51 cas négatifs dans les cas non malades de la population (108 cas) car sa spécificité est de 47.2 %.

On conclut ; la proportion de malade parmi les cas positifs est 5/62 % ce qui indique que les chances qu'un individu positif au test PCRIS6110 soit réellement malade sont 8.06 %.

Si on a une augmentation de la sensibilité on aura un accroissement des résultats positifs donnés par le test plus on aura une augmentation des vrais et faux positifs.

La VPN est très importante (94.4%) donc ce test PCRIS6110 est très fiable et donne des informations valables si son résultat est négatif (test négatif et patient sain) mais un peu difficile à interpréter si son résultat est positif.

D'après le coefficient de Yule l'intensité de la liaison entre les deux variables (malade et signe) est faible $Q = (0.10 - 0.29)$.

4. Intérêt de la PCR par rapport à la culture :

Cette étude prospective a été entreprise pour mettre en valeur l'intérêt de la méthode conventionnelle, moléculaire (PCRIS6110) dans le diagnostic de la tuberculose extra-pulmonaire en le comparant avec celle classique biologique (culture),

Les observations principales sont une sensibilité significative de la PCRIS6110 via *mycobacterium tuberculosis* accompagnée d'une rapidité de diagnostic de la maladie.

à notre connaissance, il s'agit de la première étude au Maroc qui s'intéresse principalement au rôle de la PCRIS6110 conventionnelle dans le diagnostic de la tuberculose extra-pulmonaire, par comparaison avec la méthode classique, et parmi les rares études qui dévoilent l'existence, la fréquence, l'épidémiologie, et la gravité de l'atteinte tuberculose extra-pulmonaire. L'introduction des résultats biologiques du diagnostic microscopique était absents dans cette étude à cause de quelque contraintes au cours du travail.

La plupart des études confirment la performance du PCRIS6110 par rapport à la culture. Par contre, nos résultats étaient contradictoires à ceux obtenus par M. Blanie et al qui avaient retrouvé que « La PCR peut donc donner au clinicien dans plus de 30 % des cas un diagnostic précoce. La sensibilité de la PCR est décevante par rapport à la culture qui reste l'examen clé dans le diagnostic des tuberculoses extra-pulmonaires. L'utilisation des milieux de culture liquides notamment automatisés non radioactifs diminue les délais de culture, limite les contaminations. Ils sont par ailleurs facilement utilisables en routine. L'ensemencement conjoint d'un milieu solide et liquide permet d'obtenir une sensibilité maximale et facilite l'identification [5] ».

La sensibilité de la PCRIS6110 était plus importante dans les échantillons ganglionnaires (biopsies et pus), pleural (liquide), Nous pouvons expliquer cette variabilité dans les résultats par la différence des populations d'études et des types d'échantillons (l'origine biologique et la nature du prélèvement).

L'utilisation de la méthode d'amplification génique par PCRIS6110 pour le diagnostic de la tuberculose extra-pulmonaire (*M.Tuberculosis*), constitue une alternative ou un complément d'informations aux techniques de détections habituelles.

Appliquée à la détection de *M.Tuberculosis* dans des échantillons extra-pulmonaires, la PCRIS6110 s'est révélée performante mais sa reproductibilité et sa sensibilité se sont montrées largement dépendantes des procédures de préparation des échantillons.

Au cas où on a existence des produits inhibiteurs qui persistent dans des échantillons, on peut éliminer cet effet inhibiteur par réalisation d'une double amplification ou par dilution de l'échantillon.

De plus, la sensibilité de la technique la rend sensible aux contaminations par des produits issus d'une première amplification. La séparation des diverses étapes de traitement des échantillons est donc indispensable. Et le choix des amorces oligo-nucléotidiques conditionne la spécificité de la réaction.

La spécificité de la détection est excellente et s'est montrée supérieure, dans quelque cas, aux techniques bactériologiques.

CONCLUSION

On conclut que la technique de PCR est sensible, très spécifique, rapide et automatisable. Avec un gain de temps par rapport à la culture par élimination des temps de cultures et incubation.

	Méthode classique (culture)	Méthode Conventionnelle (PCR)
Sensibilité	+	+
Spécificité	+	+++
Rapidité et gain de temps	+	+++
Contamination et faux positifs	++	++
Présence d'inhibiteurs et faux négatifs	0	++

La PCR IS6110 est plus spécifique pour la majorité des formes et localisations de la tuberculose extra-pulmonaire sauf exception pour la tuberculose ostéo-articulaire où la PCR MYITS est plus marquante.

La mise en culture du germe en cause nécessite un temps relativement long (48 jours en moyenne), et la mise en évidence des anticorps circulants manque de sensibilité, donc en raison de ces performances, la PCR constitue une alternative aux méthodes bactériologiques ou sérologiques utilisées à ce jour. Elle est indiquée pour sa spécificité pour le diagnostic d'épanchements tuberculeux mais sa sensibilité est variable, (mazza stalder 2012). A ce qui concerne la tuberculose abdominale, l'intérêt de la PCR reste à évaluer.

Puisque la méthode biologique est très sensible et la PCRIS6110 est d'une spécificité très importante ; la combinaison des deux méthodes comme diagnostic de routine sera très intéressante.



CONCLUSION



La tuberculose demeure actuellement l'une des pathologies infectieuses les plus répandues et causant le plus de décès au niveau mondial. C'est un véritable problème de santé publique surtout au niveau des pays en voie de développement notamment au Maroc.

Si la localisation pulmonaire est la manifestation clinique la plus fréquente et pratiquement la seule contagieuse, et sur elle que sont axés tous les programmes nationaux de lutte, l'importance clinique des formes extra-pulmonaires est de plus en plus d'actualité. En effet, l'incidence de ces formes extra-pulmonaires a augmenté de façon dramatique et plus nettement avec la pandémie du VIH. Le développement de nouveaux tests de diagnostic de tuberculose a permis d'optimiser la prise en charge de la tuberculose maladie.

Nous avons confirmé que la méthodologie de la PCR utilisant IS6110 en tant que cible pour *M. tuberculosis* peut être très spécifique et sensible pour la détection de la TBE à partir d'une variété d'échantillons cliniques. Avec la faible fiabilité des techniques classiques, la mise en œuvre des méthodes plus sensibles devrait être encouragée pour les spécimens soupçonnés d'avoir peu de bacilles [105].

Cette technique consiste à détecter et amplifier une séquence nucléique spécifique du complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Son seuil de sensibilité est considérable puisqu'il suffit de la présence d'une molécule d'ADN ou d'ARN par échantillon pour que le *Mycobacterium tuberculosis* soit détecté. Sa spécificité est très bonne. Parmi ses inconvénients qu'elle ne permet pas la distinction entre BK mort et BK vivant. Mais elle reste une technique plus fiable et rapide dans le diagnostic de la tuberculose extra-pulmonaire à côté de celle classique (la culture).

Malgré une diminution des taux d'incidence, le Maroc n'a pas encore atteint l'objectif fixé par le programme national de lutte contre la tuberculose qui prévoit un taux de diminution de 6% pour les prochaines années.

“L'éradication de la tuberculose est tributaire de l'élimination des déterminants socio-économiques de cette maladie qui demeure, malgré les efforts consentis, un sérieux problème de santé publique [106]”

Dr, Anas Doukkali.



RÉSUMÉS



RÉSUMÉ

Titre : Diagnostic moléculaire de la tuberculose extra-pulmonaire par PCR

Auteur : MOUFID Hafida

Directeur de thèse : Dr. MARIAMA CHADLI

Mots clés : la tuberculose-la tuberculose extra-pulmonaire-diagnostic - diagnostic moléculaire de la TEP par PCR -PCR IS6110

La tuberculose connaît actuellement une reprise évolutive mondiale inquiétante. Au Maroc, malgré les efforts importants déployés pour la prévenir, contrôler et maîtriser la tuberculose, qui fait toujours partie des principales priorités du ministère de la santé, sa fréquence demeure élevée avec 27.000 à 28.000 nouveaux cas dépistés annuellement [29].

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à mettre en valeur l'intérêt de la méthode moléculaire conventionnelle (PCR) par rapport à celle classique (culture) dans le diagnostic de la tuberculose extra-pulmonaire avec ses différentes localisations, à l'aide d'une étude prospective réalisée entre 11/11/2015 et 18/04/2016 sur 124 cas avec exclusion de 8 cas (116) au sein de l'institut Pasteur du Maroc (IPM) à Casablanca et le centre national de l'énergie et des sciences et techniques nucléaires (CNESTEN) à Rabat . L'analyse des données a montré les résultats suivants :

On a noté une nette prédominance féminine avec 62 femmes contre 54 hommes. L'âge moyen était de 35 ans avec des extrêmes allant de 9 ans à 87 ans. La tuberculose extra-pulmonaire chez nos patients est largement dominée par une adénopathie (ganglionnaire et cervicale) chez 68,1% des cas et une atteinte uro-génitale chez 13,79% des cas, d'autres formes extra-pulmonaires ont été rapportées avec des fréquences variables. La méthode moléculaire conventionnelle et précisément celle utilisant l'IS6110 est plus sensible, spécifique, rapide et automatisable que celle classique.

La tuberculose extra-pulmonaire constitue l'une des manifestations les moins diagnostiquées et moins fréquentes de la tuberculose. Elle touche les deux sexes à un âge jeune, avec une prédominance féminine. Elle pose essentiellement des difficultés diagnostiques et thérapeutiques. La culture détermine l'espèce responsable et sa sensibilité mais n'est pas un examen de routine.

SUMMARY

Title: Molecular diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis by PCR

Author: MOUFID Hafida

Thesis director: Dr. MARIAMA CHADLI

Key words: Tuberculosis-extra - Pulmonary tuberculosis-diagnosis - Molecular diagnosis of PET by PCR-PCR IS6110

Tuberculosis is currently experiencing a worrying global evolutionary recovery. In Morocco, despite major efforts to prevent, control and control of tuberculosis, which is still one of the main priorities of the Ministry of Health, its frequency remains high with 27,000 to 28,000 new cases detected annually [29].

In this work we are interested in highlighting the interest of the conventional molecular method (PCR) compared to that classical (culture) in the diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis with these different localizations, with the help of a prospective study carried out between 11/11/2015 and 18/04/2016 on 124 cases with exclusion of 8 cases (116) within the Institute Pasteur of Morocco (IPM) in Casablanca and the national center of energy and Nuclear Science and Technology (CNESTEN) in Rabat. The analysis of the data showed the following results:

There was a clear predominance of women with 62 women versus 54 men. The average age was 35 years old with extremes ranging from 9 to 87 years old. Extra-pulmonary tuberculosis in our patients is largely dominated by lymphadenopathy (lymph node and cervical) in 68.1% of cases and urogenital involvement in 13.79% of cases, other extra-pulmonary forms have been reported with varying frequencies. The conventional molecular method and precisely that using the IS6110 is more sensitive, specific, fast and automatable than that conventional.

Extra-pulmonary TB is one of the least-diagnosed and less common manifestations of tuberculosis. It affects both sexes at a young age, with a female predominance. It poses essentially diagnostic and therapeutic difficulties. The crop determines the species responsible and its sensitivity but is not a routine examination.

ملخص

العنوان : التشخيص الجزيئي لمرض السل خارج الرئة بواسطة PCR

المؤلفة: حفيظة مفيد

مديرة الرسالة : د. مريمة الشاذلي

الكلمات المفتاحية : مرض السل- السل خارج الرئة -تشخيص - لتشخيص الجزيئي لمرض السل خارج الرئة ب PCRIS6110 - PCR

يشهد مرض السل حاليا ارتفاعا و تطورا مقلقا, ففي المغرب, من الرغم من المجهودات المبذولة للوقاية منه و مراقبة و ضبط حدته, وانه يعد من أولويات وزارة الصحة فوثيرته مازالت مرتفعة ب 27000 و 28000 حالة جديدة سنويا.

فنحن مهتمين في هذه الدراسة بإبراز أهمية التقنية الجزيئية (PCR) في تشخيص هذا الداء خارج الرئة, في مواضع مختلفة , مقارنة مع التقنية التقليدية (زرع البكتريا), وذلك بمساعدة دراسة استطلاعية على 124 حالة مع اقضاء 8 حالات (116) ما بين الفترة الزمنية 2015/11/11 و 2016/04/18 داخل معهد باستور المغرب بالدار البيضاء (IPM) و المركز الوطني للطاقة و العلوم و التقنيات النووية (CNESTEN).

من خلال تحليل المعطيات حصلنا على النتائج التالية:

قمنا بتسجيل غلبة العنصر النسوي ب 62 امرأة مقابل 54 رجل. متوسط العمر للحالات هو 35 سنة داخل فئات عمرية تتراوح ما بين 9 سنوات و 87 سنة

لاحظنا لدى مرضانا غلبة داء السل داخل العقيدات اللمفاوية على باقي المواضع الاخرى بنسبة 68.11% من الحالات, و بالنسبة للجهاز البولي التناسلي لدينا 13.79 % من الحالات و بالنسبة لمواقع المرض الاخرى خارج الرئة فكانت الوثيرة متفاوتة.

التقنية الجزيئية وبالخصوص التي تستعمل IS6110 هي أكثر حساسية و سريعة و الية من تلك التقليدية

يعد داء السل خارج الرئة هو احد ظواهر المرض الاقل تشخيصا و الاقل شيوعا و يصيب الجنسين معا في سن الشباب مع غلبة الاناث و هذا النوع من المرض يمثل صعوبات تشخيصية و علاجية

التقنية التقليدية تحدد النوع المسؤول عن المرض و حساسيته و لكنها ليست تقنية روتينية



ANNEXES



Annexe 1

Electrophorèse sur gel d'agarose :

Tampon TBE 5X

Tris base	54g
Acide Borique	27.5g
EDTA 0.5M	20 ml
Eau distillée	qsp 1000 ml.

Le TBE 5X est par la suite dilué au 1/10 pour la préparation du gel d'agarose et la migration.

Loading Buffer= tampon de chargement

Bleu de bromophenol	0.25%
Glycerol	30%
Eau distillée	69.75%

Bromure d'éthidium– 10mg/ml

Bromure d'éthidium	50 mg
Eau distillée	5 ml

Annexe 2

<u>Fiche d'exploitation</u>	
<u>Identité :</u>	
Nom :	N° de référence :
Prénom :	
Age :	Résidence :
Sexe :	Ville :
<u>Motif d'hospitalisation :</u>	
<u>Service médical transmetteur :</u>	
-Médecins :	- Laboratoire d'analyse :
-Autres :	- Centre :
<u>ATCDS :</u>	
Personnels :	
Familiaux :	
<u>Clinique :</u>	
Signes généraux :	
-Fièvre	-Altération de l'état générale
	-Asthénie
Signes fonctionnels :	
-Toux	-Expectoration
-Signes extra-respiratoires	-altérations cutanée
-Sueurs nocturnes	-Autres
<u>Bilan para clinique :</u>	
-Bactériologique : BK, culture.	
-IDR :	
-biologie : NFS, CRP...	
-Autres :	
<u>Localisation de la tuberculose extra-pulmonaire:</u>	
- ganglionnaire	- pleurale
-urogénitale	- ostéo-articulaire
-neuro-méningée	- digestive
-cutanée	- péricardique
-oculaire	- Autres formes rares
<u>Traitement anti-bacillaire :</u>	
-Traitement achevé	-au cours du traitement



BIBLIOGRAPHIE



- [1]. **Baba Diallo. M.** La tuberculose extra pulmonaire au cours de l'infection à VIH aspect épidémiologique cliniques et évolutifs. A propos de 247 cas colligés à la clinique des maladies infectieuses de fann. Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine (diplôme d'état). Dakar. 2006. p : 108.
- [2]. **Ben Hamad. W, Samadhi. H, et al.** 19^{ème} congrès de pneumologie de langue française-Lille, 30 janvier 2015, A200, p : 633-635.
- [3]. **Bernard. C et al.** Mycobactéries, Mycobactériose. Cahier de formation biologique médicale N°29.2003.Bioforma.France p : 157.
- [4]. **Billy. C.** Aspect cliniques et thérapeutique de la tuberculose chez l'enfant et l'adulte. Encyclopédie médico chirurgicale 8-038-C-30 (2004). France
- [5]. **Blanie M. et al.** Apport de la PCR dans le diagnostic des tuberculoses extra pulmonaires. Médecine et maladies infectieuses 35(2005) 17-22. France
- [6]. **Bouaddi. S et al.** Aspect épidémiologique des formes graves de la tuberculose au Maroc. Bulletin épidémiologique 2^{ème} trimestre 1993, Royaume du Maroc Ministère de santé publique. Direction de l'épidémiologie et des programmes sanitaire. Maroc
- [7]. **Bouchikh. S ; Stirneman.J et al.** Durée de traitement des tuberculoses extra pulmonaire : six mois ou plus ? Analyse de base de données TB. INFO. Revue de médecine interne 33(2012) p : 665-671
- [8]. **Bouvet. E.** Prévention et prise en charge de la tuberculose en France. Rev Mal Res 2003, 20, 7S1-7S106. P: 144 (on peut le trouver aussi sur www.splf.org)
- [9]. **Comité d'experts de la fondation contre la tuberculose et les affections respiratoires (BELTA),** diagnostic et traitement de la tuberculose, Manuel pratique, recommandations destinées au corps médical, Septembre 2010. Bruxelles, Belgique. JP van Vooren-FARES asbl. P : 85.

- [10]. **Gbané-Koné. M et al.** Tuberculose osteo-articulaire (mal de pott exclu : à propos de 120 cas à Abidjan. Pan African medical journal. 2015; 21: 279 Doi: 10.11604/pamj.2015. 21.279.6115.
- <http://www.panafrican-med-journal.com/content9/article/21/27/full/> . P: 7.
- [11]. **Groupe de travail du conseil supérieur d'hygiène publique de France,** Diagnostic clinique et bactériologique de la tuberculose Rev Mal res 2003 ; 20 :7S34-7S40.
- [12]. **En ligne** sur www.google.com
- [13]. **Hamzaoui. G, Amro. L, et al.** Tuberculose ganglionnaire : aspect épidémiologique, diagnostiques et thérapeutiques, à propos de 357 cas. Pan African médical [En ligne sur pub Med/Google scholar].16/10/2014. <http://www.panafrican-med-journal.com/content/article/19/157/full/>
- [14]. **Harries. D. A.** Robert koch et la découverte du bacille tuberculose : le défi du VIH et de la tuberculose après 125 ans, robert koch mémorial lecture donnée au cours de la 38^{eme} conférence mondiale de l'union sur la santé respiratoire, Captown, Afrique du sud, 8-12 novembre 2017.The international journal of tuberculosis and Lung disease. p : 9.
- [15]. **Heydari. A. A.** Urine PCR evaluation to diagnostic pulmonary tuberculosis. Jundishapur J Microbiol. 2014 March; 7(3): e9311; Doi: 10.5812/jjm.9311
- [16]. **Huchon G.** Tuberculose et mycobactérioses non tuberculeuses. Maladies infectieuses (8-038-C-10). 1997 Elsevier, Paris p : 53.
- [17]. **Jacquier. M. C.** Tuberculose : une maladie à combattre. Futura- science. 18 janvier 2009, <http://www.futurascience.com/magazines/santé/info/dossiers/d/medecine-tuberculose-maladie-combattre-899>. France.

- [18]. **Kyle J. M, et al .** The DNA –binding network of Mycobacterium tuberculosis. 12 Jan 2015, Washington, Usa Nature communications. Doi : 10.1038/n comms 6829. P : 10.
- [19]. **Labie. D.** Le génome des mycobactéries : étude biologique et interprétation évolutive. Médecine sciences, vol.19, n°3,2003, p275-277. Http : //id.erudit.org/idérudit/006460ar.
- [20]. **Labie. D.** Résistances de mycobacterium tuberculosis, [Document électronique]. Paris.2007.http :http://www.médecinesciences.org.pdf.
- [21]. **laboratoire international des analyses biomédicales (LIAB).** Manuel des prélèvements LIAB 2016.pdf,liab.co.ma/wp_content/uploads/2016/06/Manuel des prélèvements-liab-2016. PDF, Consulter le 16/12/2016
- [22]. **laboratoire international des analyses biomédicales (LIAB).** Tuberculose, liab.co.ma/wp_content/uploads/2013/02/letter_tuberculose.pdf. Consulter le 16/12/2016
- [23]. **Lamaammal Abdelmajid.** Rôle de gènes de l'immunité innée dans la susceptibilité a la tuberculose détection du polymorphisme du gène TLR2 chez une population de Casablanca, mémoire pour l'accès au grade d'ingénieur en chef, institut pasteur du Maroc, 2009.
- [24]. **Marouan. C et al.** Evolution of molecular detection of extra-pulmonary tuberculosis and resistance to rifampicin with,Genexpert®,MTB/RIF.MedMalInfect,(2015).[Document,électronique]. Sfax,tunisia.http://dx.doi.org/10.1016/J.nedmal. 2015. 10.012.pdf.
- [25]. **Mazza-stalder. J, Nicod. L, Jensen. P. J.** La tuberculose extra pulmonaire, rev des maladies respiratoires (mars 2012). Suisse .29 mars 2012, p : 566-578

- [26]. **Noor. M. K et al.** Molecular diagnostics in microbiology. Molecular diagnostics for tuberculosis. [Document électronique]. Australia. Pathologie (April 2015) 47 (3), p250-256 .PDF
- [27]. **Okemba-okambi. F. H et al.** 19^{ème} congrès de pneumologie de langue française-lille, 30 janvier-1^{er} février 2015, A211, p : 670-671
- [28]. **Organisation mondiale de la santé (OMS).** Lutte antituberculeuse et stratégie de recherche pour les années 90 : Mémoire d'une réunion de l'OMS. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 70(2) : 191-196 (1992). Genève
- [29]. **Ouardi. H.** Ministère de la santé. Plan national d'accélération de la réduction de l'incidence de la tuberculose 2013-2016. Royaume du Maroc. P: 77
- [30]. **Pankhurst. L. J et al.** Rapid, comprehensive and affordable mycobacterial diagnosis with whole genome sequencing: a prospective study. December 3, 2015 [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00466-X](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00466-X)
- [31]. **Patrick. B, Christophe Billy, et al.** Mycobacterium tuberculosis et mycobactéries atypiques, 2004 Elsevier SAS. P: 301
- [32]. **Pimentel cachapuz rocha. E.** Analyse exploratoire des génomes bactériens, thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Versailles Saint-Quentin-EN-Yvelines. Spécialité : Génétique cellulaire et moléculaire. 2000
- [33]. **Poitras. E, Houde. A.** La PCR en temps réel, principes et applications, reviews in biology and biotechnology.
[Http://www.enslyon.fr/relie/pcr/principe/anim/presentation-htm](http://www.enslyon.fr/relie/pcr/principe/anim/presentation-htm).
- [34]. **Raviglione. M. C.** HIV-associated tuberculosis in developing countries: clinical features, diagnosis, and treatment. Bulletin of the world health organization, 70(4): 515-526 (1992). Geneva, Switzerland.

- [35]. **Segala. E.** Caractérisation génétique, biochimique et structurale de l'ATP synthase des mycobactéries, la cible d'un nouvel antituberculeux de la famille des diarylquinolones, thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université Pierre et Marie, Paris VI, 2012.
- [36]. **Sfaihi. L, Bouraoui. A, Kalamoun. I, et al.** La tuberculose extra pulmonaire chez les enfants vaccinés par le BCG dans le sud tunisien, journal de pédiatrie et de puériculture (2010) 23,328-334 [En ligne sur www.sciencedirect.com].
- [37]. **Slim-Saidi. L, Mehiri-zeghal. E, et al.** Nouvelles méthodes de diagnostic de la tuberculose. Revue de pneumologie clinique (2015). Tunisie. [Http : //dx.doi.org/10.1016/J.pneumo.2015.02.002](http://dx.doi.org/10.1016/J.pneumo.2015.02.002).
- [38]. **Sotiros. D. C.** L'immunité dans la tuberculose. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 60(6) : 827-844 (1982). Etats unis d'Amérique. L'article original en anglais a été publié dans le bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 60 : 447-462 (1982).
- [39]. **Sudre. P et al.** La tuberculose aujourd'hui dans le monde. Unité de la tuberculose, division des maladies transmissibles, organisation mondiale de la santé, 1211 Genève 27, Suisse [l'original de cet article est paru en anglais dans le volume 70 (2) :149-159 (1992) du bulletin]. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 70 (3) : 297-308 (1992)
- [40]. **Tap. J.** Structure génétique de mycobacterium proto-tuberculosis [Fichier word]
- [41]. **Tuberculose-en-2011.stati casa.pdf.rev doctineews n°32 avril 2011**
- [42]. **Turkarslan. S et al.** Science DATA a comprehensive map of genome-wide gene regulation in mycobacterium tuberculosis, 31 March 2015. Washington. USA Doi: 10.1038/sdata 2015.10 (p : 10).

- [43]. **Varaine. F, Henkens. M, Grouzard. V.** Tuberculose, Guide pratique à l'usage des médecins, infirmiers, techniciens de laboratoire et auxiliaire de santé, mars 2010, troisième édition. www.msf.org Consulté le 20/12/2016
- [44]. **Verge. J, Thieulin. G.** L'utilisation des laits tuberculeux, revue générale de médecine vétérinaire, t.XLV, n°540. 15 Décembre 1936 p : 713. P : 7
- [45]. **Zellweger. J. P,** Ligue pulmonaire suisse, manuel de la tuberculose. Mai 2007
- [46]. **Meyer. O .** spondylodiscites bactériennes étiologie, diagnostic, évolution, traitement. Pathologie de l'appareil locomoteur-rhumatologie DCEM3 internat n° 289; service de rhumatologie cours DCEM3) (www.rhumatologie-bichat.com/spondylodiscites.html)
- [47]. **C dye.** Global epidemiology of tuberculosis, lancet 2006; 367:938-940.
- [48]. **Guide de la Lutte Anti-tuberculose.** Direction de l'épidémiologie et de Lutte contre Les Maladies, Ministère de la Santé ROYAUME DU MAROC: Edition Avril 2011
- [49]. **World Health Organization.** WHO endorses new rapid tuberculosis test: a major milestone for global tuberculosis diagnosis and care, www.who.int/mediacentre/news/releases/2010/tb_test_20101208/en/index.html
- [50]. **Stelianides. S, Belmatoug. N, Fantin. B.** Manifestations et diagnostic de la tuberculose extra-pulmonaire, Rev Mal Respir 1997 ; 14:5S72-87.
- [51]. **Toujanian. S, Ben Salahb. N, Cherifa. J, et al.** La primo-infection ET la tuberculose pulmonaire. Rev Pneumo Clin (2015)
- [52]. **Boukeroui. L, Nafti .S.** Clinique des maladies respiratoires, CHU de Mustapha, Alger, Algérie. La tuberculose multifocale chez l'immunocompétent est -elle liée à l'intensité de la transmission dans la collectivité ?

- [53]. **Roblot. F, Roblot. P, Bourgoïn. A et al.** Particularités de la tuberculose chez les sujets âgés. *Revue Med Interne* 1998; 19:629–34
- [54]. **May. T, Bevilacqua. S.** Aspects cliniques actuels de la tuberculose. Service de maladies infectieuses et tropicales, Hôpitaux de Brabois, Tour Drouet, rue du Morvan, 545100 Vandoeuvre, France.
- [55]. **Ouarssani. A, Azzedine. R .** Thèse de médecine : la tuberculose multifocale, expérience du service de Pneumologie à l'hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès. Thèse N° 104/15.
- [56]. **Stelianides. S, Belmatoug. N, Fantin. B.** Manifestations et diagnostic de la tuberculose extra pulmonaire. *Revue Mal Respire* 1997 ; 14:5S72-87.
- [57]. **Aderay A. G, Melaku B.K, Zenebe C.G.** Pleural tuberculosis in patients infected with HIV in Addis Abéba. *Cent. Afr. J. Med.* 1996; 42: 337-340.
- [58]. **Cenac A, Perl muter L, Masson A. et al.** Cahiers de pathologies médicales: Pneumologie III vol 6: Masson ; 1994.
- [59]. **Domoua. K, Daixt, Coulibaly. G.** Pleurésies tuberculeuses et infection à VIH en milieu pneumologique à Abidjan. Cote d'Ivoire. *Rev pneumo clin*, 2007 ; 63 : 301-303.
- [60]. **Mongue Ngadeu. J.F.** Place de la bacilloscopie et de la cytologie dans le diagnostic des adénopathies mycobactériennes. Th D Med; Bamako, 2002.
- [61]. **Darier. J.** Précis de Dermatologie. Paris: Masson, 1ere édition, 1909: 381-390.
- [62]. **Benchekrout. S, El Mansouri. Y, Rachid. R, et al.** Granulome choroidien pseudo tumoral au cours de la tuberculose miliaire. *J Fr Ophtalmo.* 1999 Aug-Sep; 22(7):771-5. Pub Med | Google Scholar

- [63]. **El Bakkali. M, Halhal. M, Chefchaoui. M, et al.** Uvéite tuberculeuse. J Fr Ophthalmol. 2001 Apr;24(4):396-9. PubMed | Google Schola
- [64]. **Semlali. S, El-Quassar. A, Atmane. M, et al.** Forme pseudo tumorale de la tuberculose choroïdo-sclérale: à propos d'un cas. J Radiol. 2004 Feb; 85(2 Pt 1):131-4. PubMed | Google Scholar
- [65]. **Breen. RA, Leonard. O, Perrin. FM, et al.** How good are systemic symptoms and blood inflammatory markers at detecting individuals with tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12: 44-9.
- [66]. **Lee. P, Ho. KK.** Hyponatremia in pulmonary TB evidence of ectopic antidiuretic hormone production. Chest 2010[137-207-8].
- [67]. **World Health Organization.** Global tuberculosis control. Geneva, Switzerland: WHO; 2012 [Available at: WHO/HTM/TB/2012].
- [68]. **Rémic 2010.** Chapitre 40: *Mycobacterium tuberculosis* et autres mycobactéries
- [69]. **Truffot-Pernot. C, Veziris. N.** Les tests bactériologiques de la tuberculose maladie : standards et perspectives. Rev Mal Respir. 2011 ; 28 : 1034-1047.
- [70]. **Barnes. PF, Verdegem. TD, Vachon. LA, et al.** Roentgenogram in pulmonary tuberculosis. New data on an old test. Chest 1888;94:316—20.
- [71]. **May. T, Bevilacqua. S.** Aspects cliniques actuels de la tuberculose. EMC-Radiologie 2005;5 [32-390-A-10]
- [72]. **Andreu. J, Cáceres. J, Pallisa. E, Martinez-Rodriguez. M.** Manifestations radiologiques de la tuberculose pulmonaire. EMC-Radiologie 2005 [32- 390 A-20; 12p].
- [73]. **Choyke. PL, Sostman. HD, Curtis. AM, et al.** Adult-onset pulmonary tuberculosis. Radiology 1983; 148:357—62

- [74]. **Miller. WT, Mac Gregor. RR.** Tuberculosis: frequency of unusual radiographic findings. *AJR Am T Roentgenol* 1978; 130: 867-75.
- [75]. **Farman DP, Speir Jr WA.** Initial roentgen graphic manifestations of bacteriologically proven *Mycobacterium tuberculosis*. Typical or atypical *Chest* 1986; 89:75-7.
- [76]. **Lentino. W, Jacobson. HG, Poppel. MH.** Segmental localization of upper lobe tuberculosis the rarity of anterior involvement. *Am J Roentgenol Radium Ther Nuc Med* 1957; 77:1042-7.
- [77]. **Achia. V. H, N'dhatza. M. S, Anona. J. C, et al.** Les aspect cliniques et évolutifs de la tuberculose sous influence de l'infection à VIH dans la région sanitaire de Bouaké a Service pneumologie, CHU, Bouaké, centre antituberculeux, Bouaké, Côte D'ivoire. *Revue des Maladies Respiratoires* (2011) 28(1S), A25-A160
- [78]. **Billy. C, Perronne. C.** Aspects cliniques et thérapeutiques de la tuberculose chez l'enfant et l'adulte. *EMC Maladies infectieuses*. 2004 ; 1 :81-98
- [79]. **Denis-Delpierren. N, Merriend. D, Billaud. E, et al.** Tuberculose multifocale : à propos de 49 cas. *Patho Biolog* 1998 ; 46 : 375-9
- [80]. **Natech. F, Lafoz. C, Baraka. S, et al.** Diversité génotypique de souches de mycobactéries isolées de tuberculoses multifocales chez des patients VIH positifs, Laboratoire central, Ehs EL Hadi Flici (ex El kettar) 16000, Alger, Algérie.
- [81]. **Basharm, Alcabes. P, Romw.N, et al.** Increased incidence of multidrug-resistant tuberculosis in diabetic patients on the Bellevue Chest Service, 1987 to 1997 *Chest*, 2001 Nov, 120(5) ; 1514- 1519.

- [82]. **Mielke ME, Rosen H, Brocke S, Peters C, Hahn H.** Protective immunity and granuloma formation are mediated by two distinct tumor necrosis factor alpha- and gamma interferon-dependent T cell-phagocyte interactions in murine listeriosis: dissociation on the basis of phagocyte adhesion mechanisms. *Infect Immun* 1992; 60:1875 -82
- [83]. **Tak PP, Visser LG, Hoogkamp-Korstanje JA, et al.** Unusual manifestations of *Yersinia enterocolitica* infections diagnosed using novel methods. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 645- 9.
- [84]. **Lafond. RE, Lukehart. SA.** Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 29 -49
- [85]. **www.google.com**
- [86]. **Jarefors. S, Janefjord. CK, Forsberg P, et al .**Decreased up-regulation of the interleukin-12Rbeta2-chain and interferon-gamma secretion and increased number of forkhead box P3-expressing cells in patients with a history of chronic Lyme borreliosis compared with asymptomatic *Borrelia*-exposed individuals.*Clin Exp Immunol* 2007; 147:18- 27
- [87]. **Bosch X.** Hypercalcemia due to endogenous over production of active vitamin D in identical twins with cat-scratch disease. *Jama* 1998; 279: 532- 4
- [88]. **Ricosse JH, Emeric R, Courbil LJ.** Aspects anatomopathologiques de la bilharziose : étude de 286 pièces histologiques. *Med Trop (Mars)* 1980;40:77-94.
- [89]. **Kumar PV, Vasei M, Sadeghipour A, et al.** Visceral leishmaniasis: bone marrow biopsy findings. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007; 29: 77 -80.
- [90]. **Fiala. M, Colodro. I, Talbert. W, et al.** Bone marrow granulomas in mononucleosis. *Postgrad Med J* 1987; 63: 277 -9.

- [91]. **Tjwa M, De Hertogh G, Neuville B, et al.** Hepatic fibrin-ring granulomas in granulomatous hepatitis: report of four cases and review of the literature. *Acta Clin Belg* 200; 56: 341- 8.
- [92]. **Ban S, Goto Y, Kamada K, Takahama M, Watanabe H, Iwahori T, et al.** Systemic granulomatous arteritis associated with Epstein-Barr virus infection. *Virchows Arch* 1999; 434: 249- 54.
- [93]. **Lobdell DH.** 'Ring' granulomas in cytomegalovirus hepatitis. *Arch pathol lab Med* 1987; 111: 881-2
- [94]. **El mdaghri. N, hermani I. N, el messaoudi MD et al.** Lettre Pasteur, lettre d'information trimestrielle, numéro 2ème trimestre 2014
- [95]. **Koutlidis. N, Fillion A, Michel F.** Tuberculose urogénitale, 21/04/2009. EMconsulte [.http://www.em-consulte.com/article/209893/tuberculose-urogenitale](http://www.em-consulte.com/article/209893/tuberculose-urogenitale)
- [96]. **Ladeb .M.F, Chelli-Bouaziz. M, Riahi. H, Chakroun. M.** Imagerie de la tuberculose articulaire extra-rachidienne 29/05/2015, EMConsulte. <http://www.em-consulte.com/article/979597/imagerie-de-la-tuberculose-articulaire-extrarachid>
- [97]. **Vassias. I.** Principe de l'amplification en chaîne par polymérase, 16/01/2012, France. <http://www.em-consulte.com/article/686207/principe-de-l-amplification-en-chaîne-par-polymera>
- [98]. **Guide de la Lutte Antituberculeuse**, direction de l'épidémiologie et de lutte contre les Maladies, Ministère de la Santé ROYAUME DU MAROC: Edition Avril
- [99]. **LACUT. J, DUPON. M, PATY. M.** Tuberculoses extra- pulmonaire: Revue des possibilités de diminution des délais d'intervention thérapeutique. *Med.Mal.Infect.* 1995 ; 25 : 304-20.
- [100]. **HUCHONG.** Tuberculose et mycobactérioses non tuberculeuses. *Encycl. Med. Chir. Pneumol .Paris* 1997, 6-019-A-33, 20p.

- [101]. **El Baraka. Y.** Étude rétrospective de la prise en charge des malades atteints de tuberculose, Expérience du service de pneumologie de l'Hôpital Militaire moulay Ismail Meknès (A propos de 1725 cas), pour l'obtention du doctorat en médecine, N° de thèse : 167/15 Maroc, 2015
- [102]. **C. Guillet-caruba, V. Martinez et al.** Les nouveaux outils de diagnostic microbiologique de la tuberculose maladie ; la revue de médecine interne 35 (2014) 794-800.
- [103]. **Le matin.** Maroc - 28.000 nouveaux cas de tuberculose diagnostiqués, 15 février 2010 <http://www.flutrackers.com/forum/showthread.php?p=342061>
- [104]. **Comité éditorial pédagogique de l'uvmaf.** Hygiène individuelle et collective, université médicale virtuelle francophone, 01/07/11 support de cours (version PDF)
- [105]. **Portillo-Gómez, L.; Morris, S. L.; Panduro, A.** Rapid and efficient detection of extra-pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* by PCR analysis, The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, Volume 4, Number 4, April 2000, pp. 361-370(10)
- [106]. **Belhaj Soulami .L.**La tuberculose tue toujours au Maroc, surtout les pauvres. La dépêche (journal électronique), 26 mars 2018 à 21 h 42 min | Mis à jour 28 mars 2018



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 publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

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 méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.



قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي

أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم
بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.

أن أزول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا
أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
أن ألزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك
والشرف، وكذا بالاستقامة والترف.

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 أفي بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد .



المملكة المغربية
بالرباط جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة الرباط



أطروحة رقم: 01

سنة: 2019

التشخيص الجزيئي لمرض السل خارج الرئة بواسطة PCR أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

الآنسة: حفيظة مفيد

المزودة في: 07 فبراير 1988 بالدار البيضاء.

لنيل شهادة

دكتور في الصيدلة

الكلمات الأساسية: مرض السل - مرض السل خارج الرئة - تشخيص
- التشخيص الجزيئي لمرض السل خارج الرئة - PCRIS6110.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: ميمون زهدي

أستاذ في علم الاحياء الدقيقة

مشرف

السيدة: مريم الشادلي

أستاذة مبرزة في علم الاحياء الدقيقة

عضو

السيدة: سعيدة طلال

أستاذة في علم الكيمياء و الكيمياء الاحيائية

عضو

السيدة: سكيمة الحمزاوي

أستاذة في علم الاحياء الدقيقة

عضو

السيد: ياسين سخسوخ

أستاذ في علم الاحياء الدقيقة

عضو

السيدة: نزهة مسعودي

أستاذة مبرزة في علم الدم