



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

ANNEE 2017

THESE N° 100

**Etude moléculaire de la
résistance à l'Isoniazide des
bacilles du complexe
Mycobacterium tuberculosis**

THESE

**PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE
28/06/2017**

PAR

Mlle. Loubna TAYEBI

Née le 17 Octobre 1990 à EL KSIBA BENI MELLAL

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS CLES

Mycobacterium tuberculosis- Résistance - Isoniazide

JURY

Mr.	S. AMAL Professeur de Dermatologie	PRESIDENT
Mr.	S. ZOUHAIR Professeur de Microbiologie Virologie	RAPPORTEUR
Mme.	L. ARSALANE Professeur de Microbiologie Virologie	} JUGES
Mme.	N. SORAA Professeur de Microbiologie Virologie	
Mr.	H.A. BENJALLOUN Professeur agrégé de Pneumo-phtisiologie	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"رب أوزعني أن أشكر نعمتك
التي أنعمت علي وعلى والدي
وأن أعمل صالحا ترضاه
وأصلح لي في ذريتي إني تبت
إليك وإني من المسلمين"
صدق الله العظيم



Serment d'hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

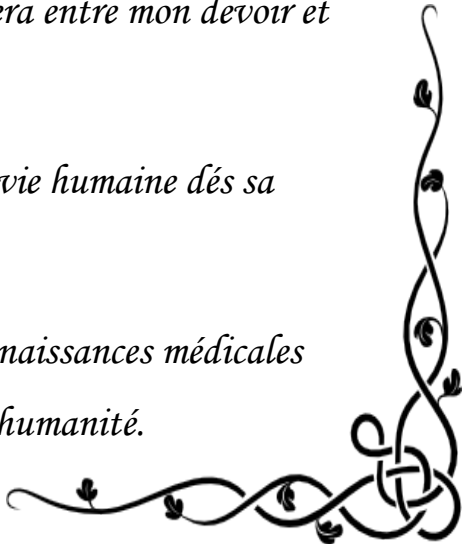
Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.





*LISTE DES
PROFESSEURS*



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen : Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération : Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques : Pr. Redouane EL FEZZAZI

Secrétaire Générale : Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie- obstétrique	ETTALBI Saloua	Chirurgie réparatrice et plastique
ADERDOUR Lahcen	Oto- rhino- laryngologie	FINECH Benasser	Chirurgie – générale
ADMOU Brahim	Immunologie	FOURAIJI Karima	Chirurgie pédiatrique B
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AKHDARI Nadia	Dermatologie	KISSANI Najib	Neurologie
AMAL Said	Dermatologie	KOULALI IDRISSEI Khalid	Traumato- orthopédie
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KRATI Khadija	Gastro- entérologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie -Virologie	LMEJJATI Mohamed	Neurochirurgie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique B	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie – générale
ASRI Fatima	Psychiatrie	MAHMAL Lahoucine	Hématologie - clinique

BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BOUAITY Brahim	Oto-rhino- laryngologie	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BOUGHALEM Mohamed	Anesthésie - réanimation	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie - chimie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio-Vasculaire	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophthalmologie
BOURROUS Monir	Pédiatrie A	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie A	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
CHABAA Laila	Biochimie	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
CHAKOUR Mohamed	Hématologie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	SAIDI Halim	Traumato- orthopédie
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie- réanimation
DAHAMI Zakaria	Urologie	SARF Ismail	Urologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	SBIHI Mohamed	Pédiatrie B
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie- obstétrique A/B
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie B	YOUNOUS Said	Anesthésie- réanimation
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Microbiologie
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie B	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie- réanimation	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique A
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	GHOUNDALE Omar	Urologie
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
ADALI Imane	Psychiatrie	HADEF Rachid	Immunologie

ADALI Nawal	Neurologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique A	HAOUACH Khalil	Hématologie biologique
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	HAROU Karam	Gynécologie-obstétrique B
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie-obstétrique A	JALAL Hicham	Radiologie
ALAOUI Mustapha	Chirurgie- vasculaire périphérique	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique B
ALJ Soumaya	Radiologie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie-réanimation
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
BAHA ALI Tarik	Ophtalmologie	LAKMICHI Mohamed Amine	Urologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LOUHAB Nisrine	Neurologie
BASRAOUI Dounia	Radiologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie A
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique A	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BELKHOUCHE Ahlam	Rhumatologie	MEJDANE Abdelhadi	Chirurgie Générale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MOUFID Kamal	Urologie
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie B	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BENJILALI Laila	Médecine interne	NARJISS Youssef	Chirurgie générale
BENLAI Abdeslam	Psychiatrie	NOURI Hassan	Oto rhino laryngologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique B	QACIF Hassan	Médecine interne
BOURRAHOUCHE Aicha	Pédiatrie B	QAMOUSS Youssef	Anesthésie-réanimation
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	RABBANI Khalid	Chirurgie générale

CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie A	RADA Nouredine	Pédiatrie A
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	RBAIBI Aziz	Cardiologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	ROCHDI Youssef	Oto-rhino-laryngologie
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SORAA Nabila	Microbiologie - virologie
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	TAZI Mohamed Illias	Hématologie- clinique
EL HAOUATI Rachid	Chiru Cardio vasculaire	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virologie
EL HAOURY Hanane	Traumato- orthopédie A	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZIADI Amra	Anesthésie - réanimation
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZYANI Mohammed	Médecine interne
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	RAFIK Redda	Neurologie

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie – Embryologie - Cytogénétique
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	KADDOURI Said	Médecine interne
AIT BATAHAR Salma	Pneumo- phtisiologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
AMINE Abdellah	Cardiologie	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	LALYA Issam	Radiothérapie
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale

ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	MAHFOUD Tarik	Oncologie médicale
BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	MARGAD Omar	Traumatologie - orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie -Réanimation	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie
BENHADDOU Rajaa	Ophtalmologie	MOUHADI Khalid	Psychiatrie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo- phtisiologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie (Neonatalogie)	MOUNACH Aziza	Rhumatologie
BOUCHAMA Rachid	Chirurgie générale	MOUZARI Yassine	Ophtalmologie
BOUCHENTOUF Sidi Mohammed	Chirurgie générale	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
BOUKHRIS Jalal	Traumatologie - orthopédie	NADOUR Karim	Oto-Rhino - Laryngologie
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	NAOUI Hafida	Parasitologie Mycologie
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
CHRAA Mohamed	Physiologie	OUERIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
DIFFAA Azeddine	Gastro- entérologie	RHARRASSI Isam	Anatomie-patologique
EL HARRECH Youness	Urologie	SAJIAI Hafsa	Pneumo- phtisiologie
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	SAOUAB Rachida	Radiologie
EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie - Réanimation
ELQATNI Mohamed	Médecine interne	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
ESSADI Ismail	Oncologie Médicale	SERHANE Hind	Pneumo- phtisiologie
FAKHRI Anass	Histologie- embryologie cytogénétique	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio-organique	YASSIR Zakaria	Pneumo- phtisiologie
FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
GHOZLANI Imad	Rhumatologie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
Hammoune Nabil	Radiologie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio-Vasculaire



DÉDICACES



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

Marcel Proust.

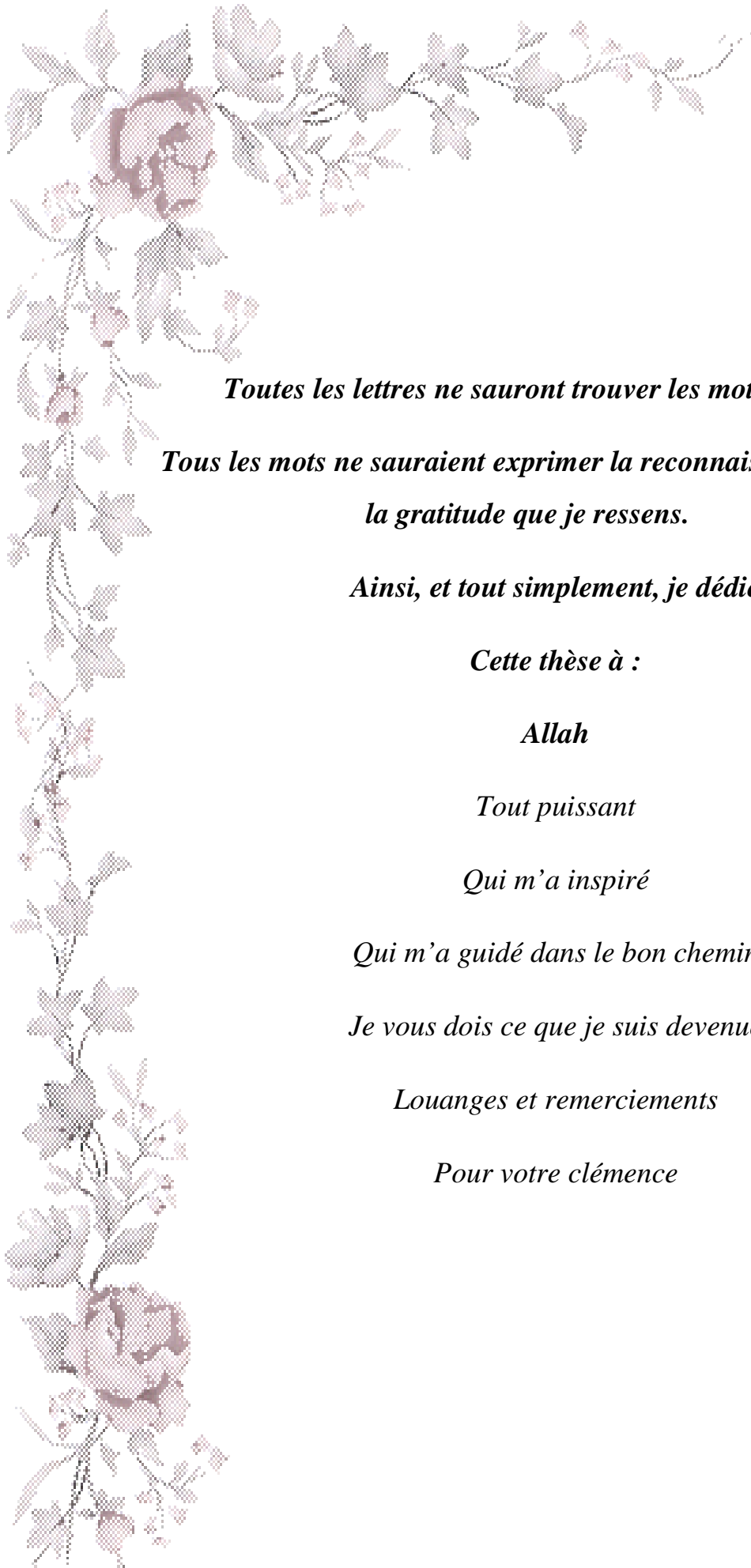


Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude que

je dédie cette thèse ... 

الله أكبر

*Louange à Dieu tout puissant,
qui m'a permis de voir ce jour tant attendu.*



Toutes les lettres ne sauront trouver les mots qu'il faut

*Tous les mots ne sauraient exprimer la reconnaissance, l'amour,
la gratitude que je ressens.*

Ainsi, et tout simplement, je dédie

Cette thèse à :

Allah

Tout puissant

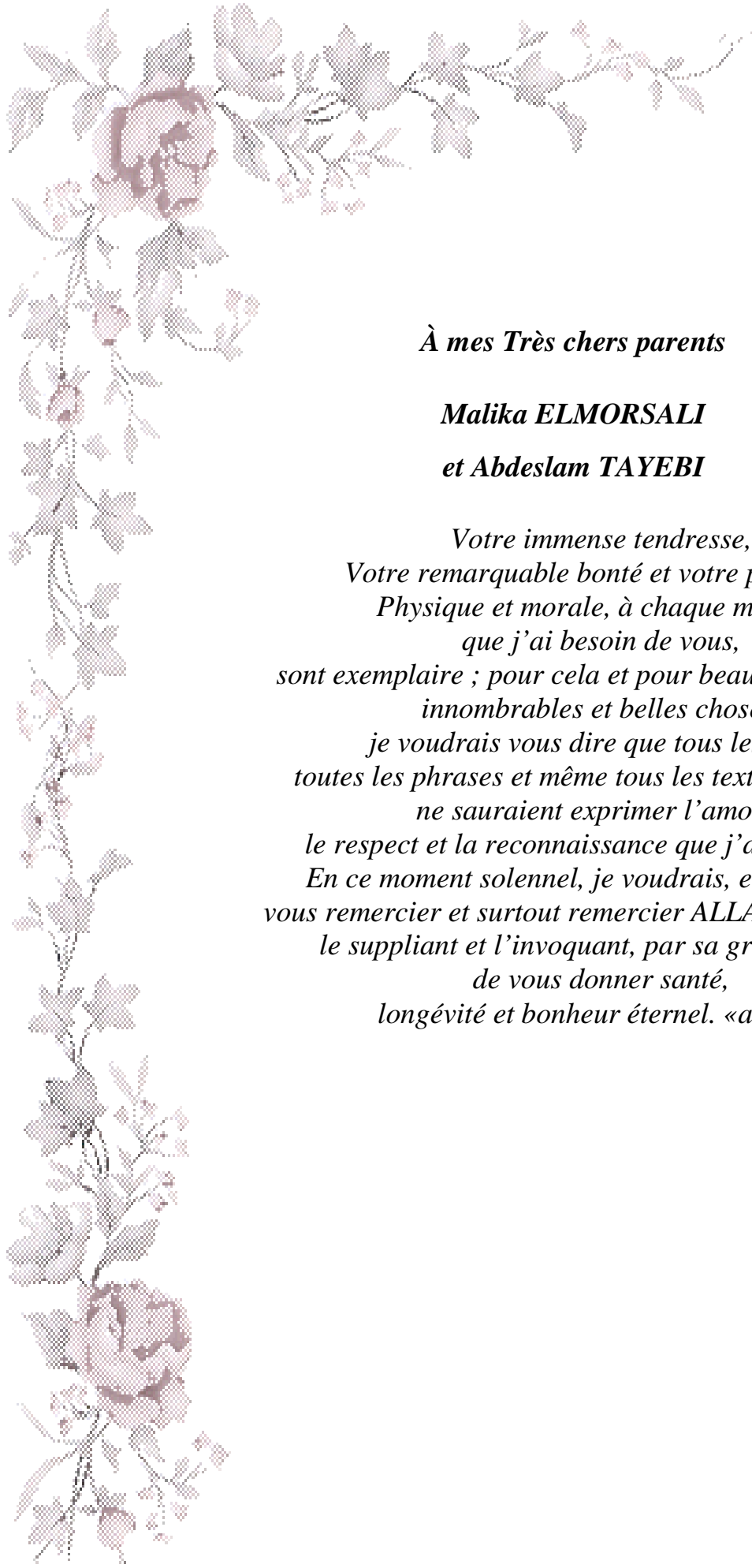
Qui m'a inspiré

Qui m'a guidé dans le bon chemin

Je vous dois ce que je suis devenue

Louanges et remerciements

Pour votre clémence

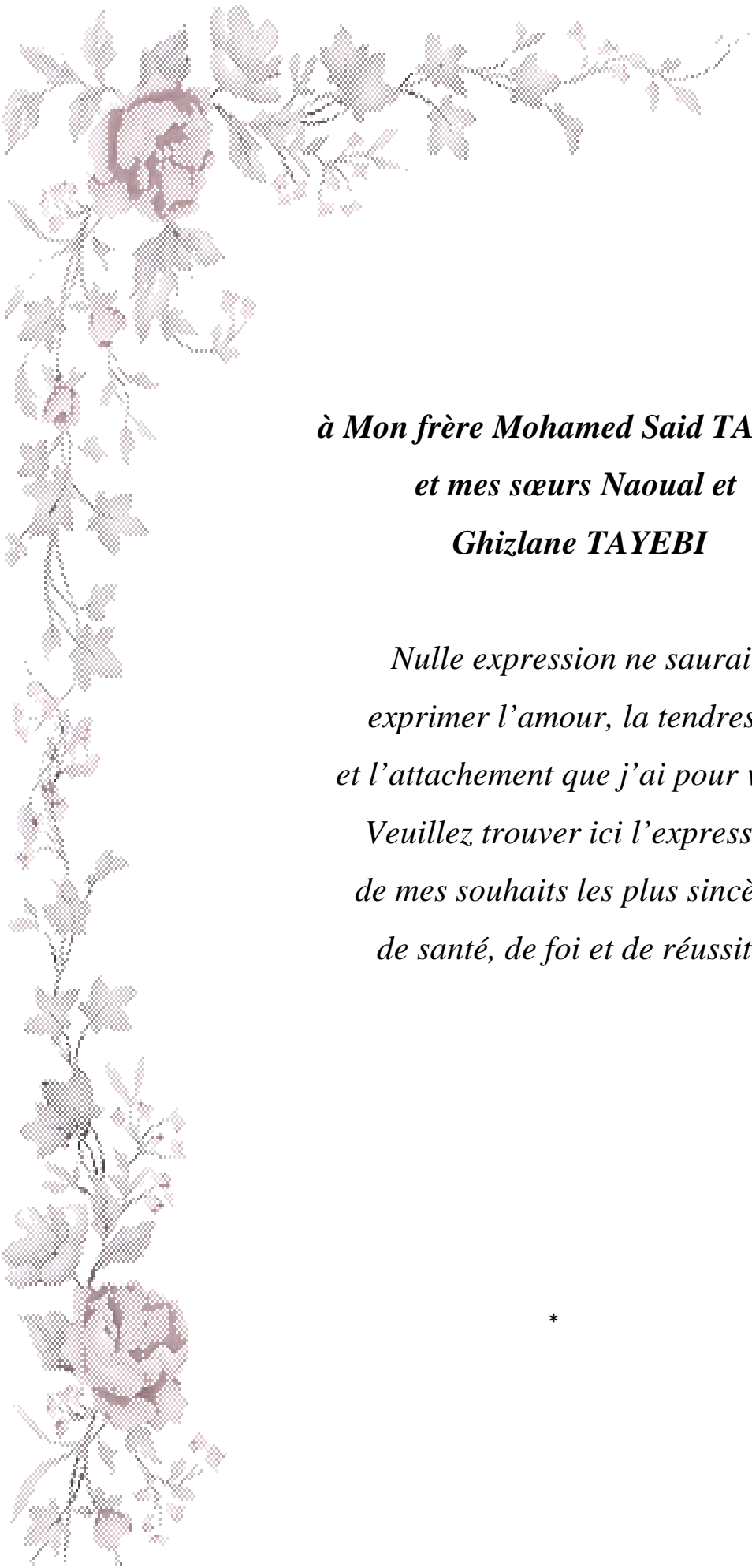


À mes Très chers parents

Malika ELMORSALI

et Abdeslam TAYEBI

*Votre immense tendresse,
Votre remarquable bonté et votre présence,
Physique et morale, à chaque moment
que j'ai besoin de vous,
sont exemplaire ; pour cela et pour beaucoup d'autres,
innombrables et belles choses,
je voudrais vous dire que tous les mots,
toutes les phrases et même tous les textes du monde,
ne sauraient exprimer l'amour,
le respect et la reconnaissance que j'ai pour vous.
En ce moment solennel, je voudrais, et avec force,
vous remercier et surtout remercier ALLAH, en le priant,
le suppliant et l'invoquant, par sa grâce infinie,
de vous donner santé,
longévité et bonheur éternel. «amine»*



*à Mon frère Mohamed Said TAYEBI
et mes sœurs Naoual et
Ghizlane TAYEBI*

*Nulle expression ne saurait
exprimer l'amour, la tendresse,
et l'attachement que j'ai pour vous.
Veuillez trouver ici l'expression
de mes souhaits les plus sincères
de santé, de foi et de réussite.*

*



A tous mes amis (es)

*Pour toute l'amitié
que vous m'avez offerte,*

*pour tout le soutien que vous avez montré
lors de mes moments difficiles*

*Au souvenir des moments partagés
Je vous souhaite beaucoup de succès,
de bonheur et une longue vie*



REMERCIEMENTS



Notre Maître et Président de Jury :

Mr le Professeur AMAL SAID,

Professeur de dermatologie à la faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech et Chef service de dermatologie à l'hôpital Mohamed VI de Marrakech.,

Qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Je vous exprime par ces quelques mots mon profond respect et ma reconnaissance de m'avoir permis de réaliser ce travail.

Je vous remercie infiniment pour votre aide ainsi que votre disponibilité et votre soutien tout au long de cette expérience enrichissante.

A Mon Maître et rapporteur de thèse :

Mr le Professeur S. ZOUHAIR

Un Grand merci pour m'avoir donné le privilège de réaliser ce travail. Je vous remercie de m'avoir guidé et aidé avec toute votre énergie et votre grande passion.

Vos qualités scientifiques, pédagogiques et humaines m'ont profondément émue et resteront pour moi un exemple à suivre.

Merci de m'avoir fait découvrir et aimer l'univers de la Microbiologie.

A Mon Maître et Juge :

Mme le Professeur L. ARSALANE,

C'est un très grand honneur que vous ayez accepté de siéger parmi notre honorable jury.

Veuillez trouver ici, chère Maître, le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre grand respect.

A Mon Maître et Juge :

Madame le Professeur N. SORAA

C'est un très grand honneur que vous ayez accepté de siéger parmi notre honorable jury.

Je vous exprime ici mes remerciements sincères, mon admiration et mon profond respect.

A Mon Maître et Juge :

Monsieur le Professeur A. BENJALLOUN

Nous vous remercions pour la gentillesse avec laquelle vous avez bien voulu accepté de juger ce travail.

Veuillez accepter l'expression de nos considérations les plus distinguées.

A Mon Maître:

Monsieur le Professeur Assistant EL Kamouni Youssef

*Je vous exprime ici mes remerciements sincères et mon profond respect
Pour votre soutien et vos remarques pertinentes.*

*À Tous les enseignants de la faculté de médecine et de pharmacie de
Marrakech et Tous les chefs des différents services de l'Hôpital
Militaire Avicenne et du CHU Mohammed VI de Marrakech*

*À Tout le personnel médical et paramédical de laboratoire de
Microbiologie Virologie de l'Hôpital Militaire Avicenne*

*À Tout le personnel de la faculté de médecine et de pharmacie de
Marrakech*

*À Tout le personnel médical et paramédical de l'Hôpital Militaire
Avicenne*

À Tous ceux qui ont aidé de loin ou de près à l'élaboration de ce Travail.



LISTE DES TABLEAUX



Liste des tableaux :

Tableau I	: Interprétation des résultats des frottis (microscopie optique)
Tableau II	: Caractéristiques démographiques des patients inclus
Tableau III	: Répartition des malades selon les nouveaux cas et les cas antérieurement traités
Tableau IV	: Antécédents et conditions prédisposant à la tuberculose
Tableau V	: Nature des prélèvements
Tableau VI	: Evolution de la maladie sous traitement chez les malades
Tableau VII	: Résistance simultanée à l'Isoniazide et à la Rifampicine
Tableau VIII	: Tableau comparative de la répartition selon le sexe entre les patients ayant une tuberculose résistante et sensible à l'Isoniazide
Tableau VIII	: Analyse de facteurs de risque liés à la résistance à l'Isoniazide
Tableau X	: Posologies recommandées pour les Antituberculeux
Tableau XI	: Schéma standard pour les nouveaux cas de tuberculose pulmonaire
Tableau XII	: Tableau récapitulatif du traitement de la tuberculose
Tableau XIII	: Comparaison de nos résultats de prévalence de la résistance à l'Isoniazide avec des études internationales
Tableau XIII	: Comparaison de nos résultats de simultanéité de la résistance à l'Isoniazide et au Rifampicine avec des études internationales
Tableau XV	: Age moyen chez les patients ayant une tuberculose résistante à l'Isoniazide selon les différents études
Tableau XVI	: Répartition selon le sexe chez les patients ayant une tuberculose résistante à l'Isoniazide selon les différentes études



LISTE DES FIGURES



Liste des figures :

- Figure 1** : Appareil GeneXpert MTB/RIF du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital Militaire AVICENNE Marrakech
- Figure 2** : Exemples de résultats de la recherche de mutation dans les gènes *rpoB* et *katG* par hybridation sur bandelette Genotype® MTBDRplus.
- Figure 3** : (a), (b) et (c) Matériel du test GenoType® MTBDRplus (Hain Lifescience) du laboratoire du centre de diagnostic et traitement des maladies respiratoires de Marrakech (CDTMR)
- Figure 4** : Microscope binoculaire de marque Olympus CX31® du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital Militaire Avicenne Marrakech
- Figure 5** : Aspect de *Mycobacterium tuberculosis* après coloration (photo prise au laboratoire de Microbiologie à l'Hôpital Militaire Avicenne)
- Figure 6** : (a) et (b) Colonies de mycobactéries en culture sur milieu de Löwenstein-Jensen.
- Figure 7** : Aspect de *Mycobacterium tuberculosis* sur examen microscopique direct d'une culture positive (photo prise au laboratoire de microbiologie à l'Hôpital Militaire Avicenne)
- Figure 8** : (a), (b) et (c) Exemple des fenêtres de résultats du test GeneXpert MTB/RIF
- Figure 9** : Répartition selon les tranches d'âge des malades inclus
- Figure10** : Répartition selon le sexe des malades inclus
- Figure11** : Répartition selon l'origine des malades inclus
- Figure12** : Examen microscopique direct chez les patients inclus
- Figure 13** : Localisation de la tuberculose chez les malades inclus
- Figure14** : Identification du complexe *Mycobacterium tuberculosis* par l'étude moléculaire
- Figure15** : Prévalence de la résistance à l'Isoniazide dans notre population d'étude
- Figure16** : Répartition par tranche d'âge des malades ayant une tuberculose résistante à l'Isoniazide

- Figure17** : Représentation de l'enveloppe des mycobactéries (Zuber et al.)
- Figure18** : Incidence estimée de la tuberculose en 2014, nombre de cas pour 100 000 personnes (OMS, 2015)
- Figure19** : Pourcentage de nouveaux cas de tuberculose à bacilles multirésistants (%) en 2014 (OMS, 2015).
- Figure20** : Evaluation par l'OMS de l'incidence, la prévalence et la mortalité de la tuberculose entre 1990 et 2013, auprès de la population mondiale.(OMS 2015)
- Figure 21** : **(a)** : Infiltrat du lobe sup droit , **(b)** : Lésion cavitaire (caverne) et opacités nodulaires du CPG , **(c)** : Opacités nodulaires et excavations bilatérales des deux lobes supérieurs, **(d)** : Opacités nodulaires bilatérales et caverne axillaire gauche , **(e)** : Opacités nodulaires et cavitaires du LSD et infiltrat axillaire gauche , **(f)** : Pneumonie tuberculose .



ABBREVIATIONS



ADN	: Acide désoxyribonucléique
AMK	: Amikacine
ARN	: Acide ribonucléique
BAAR	: Bacille acido-alcool-résistant
BK	: Bacille de Koch
CDTMR	: Centre de diagnostic et traitement des maladies respiratoires de Marrakech
CPM	: Capréomycine
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
DOT	: Directly Observed Treatment
EMB	: Ethambutol
FQ	: Fluoroquinolone
INFY	: Interféron gamma
INH	: Isoniazide
INH 'R'	: Résistant à l'Isoniazide
katG	: Catalase-Peroxydase Gene
KM	: Kanamycine
MDR	: Multidrug Resistance
MNT	: Mycobacterium non tuberculosis
MR	: Multirésistant
MT	: Miliare tuberculeuse
MTB	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PAS	: Acide para-aminosalicylique
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PZA	: Pyrazinamide
RIF	: Rifampicine
RIF 'R'	: Résistant à la rifampicine
rpoB	: RNA polymerase B subunit
SM	: Streptomycine
TAG	: Test d'amplification génique
TB- MDR	: Tuberculose Multi Drug Resistant

TB-MR	: Tuberculoses à bacilles multirésistants
TB-UR	: Tuberculoses à bacilles Ultra résistants
TPM0	: Tuberculose à Microscopie Négative
TPM+	: Tuberculose à Microscopie Positive
TNFα	: Tumor necrosis factor
VM	: Viomycine
VIH	: Virus de l'immunodéficience humaine
WHO	: World Health Organization
XDR	: Extensively drug-resistant



PLAN



INTRODUCTION	1
MATERIEL ET METHODES	4
I. Type et Cadre d'étude	5
II. Objectifs de l'étude	5
1. Objectif principal	5
2. Objectifs spécifiques	5
III. Critères d'inclusion et d'exclusion	6
1. Critères d'inclusion	6
2. Critères d'exclusion :	6
3. Recueil des données :	6
IV. Considération éthique :	7
V. Matériels de laboratoire	7
VI. Déroulement de l'étude :	11
VII. Analyse des échantillons et description des procédures	12
1. Examen microscopique direct	12
2. Etapes de la coloration de Ziehl–Armand	12
3. Traitement et mise en culture	14
4. Etude moléculaire :	17
VIII. Analyse statistique :	23
RESULTATS	24
I. Caractéristiques générales de la population étudiée :	25
1. Données démographiques	25
2. Données cliniques :	27
3. Données bactériologique	28
4. Evolution de la maladie	29
5. Données de l'étude moléculaire	30
6. Comparaison et description des populations INH 'R' et INH 'S'	31
DISCUSSION	34
I. Rappel	35
1. Histoire de la tuberculose	35
2. Agent causal :	36
3. Caractères bactériologiques	37
4. Caractères épidémiologiques	40
5. Statistique mondial	43
6. Statistique national	46
7. Physiopathologie	48
8. Aspect clinique	49
9. Diagnostic	52
10. Prévention	70
11. Traitement	76

12. Résistance aux antibacillaires	89
II. Discussion des résultats :	114
1. Prévalence	114
2. Résistance simultanée à l'Isoniazide et à la Rifampicine	115
3. Comparaison de la sensibilité des techniques d'identification du Mycobacterium tuberculosis	117
4. Données démographiques :	118
5. Facteurs de risque :	119
CONCLUSION	120
ANNEXES	123
RESUMES	126
BIBLIOGRAPHIE	130



INTRODUCTION



La tuberculose représente un problème de santé publique majeur mondial, malgré les nombreuses stratégies de lutte antituberculeuse . En effet, un tiers de la population mondiale est infecté par le *Bacille de Koch* (BK) [1] . L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime 10,4 millions de personnes ayant contracté cette maladie, avec 1,8 million de décès en 2015 [2].

Au Maroc, malgré les efforts importants déployés pour prévenir, contrôler et maîtriser la tuberculose sa fréquence demeure élevée . Selon les estimations de l'OMS pour l'année 2015 , le nombre annuel de cas incidents de la tuberculose au Maroc était d'environ 30636.

Un diagnostic précoce, rapide et précis est essentiel sur le plan individuel en vue d'une prise en charge correcte du patient , mais aussi sur le plan collectif pour limiter la transmission de l'infection ; la radiographie thoracique est une étape clé du diagnostic mais la confirmation reste bactériologique.

Ces dernières années, Le diagnostic de la tuberculose a bénéficié de progrès dans le domaine de l'immunopathologie , de la biologie moléculaire, des tests in vitro à l'interféron et des biomarqueurs permettant d'augmenter la sensibilité et surtout la rapidité du diagnostic ;

Actuellement, le problème de la tuberculose est loin d'être maîtrisé. Il se trouve compliqué à cause de trois principaux évènements : l'endémie du sida , l'inefficacité relative du BCG (bacille de Calmette et Guérin) et l'apparition de souches de *Mycobacterium tuberculosis* résistantes , voire multirésistantes aux antituberculeux.

L'objectif de cette étude est de déterminer la prévalence de la résistance à l'isoniazide chez une population suivie pour tuberculose (pulmonaire ou extra pulmonaire , nouveaux cas ou antérieurement traités) confirmée avec culture positive , de comparer la sensibilité des techniques d'identification du *Mycobacterium tuberculosis* (l'examen direct et l'étude moléculaire) et de vérifier la simultanéité de la résistance à l'Isoniazide et à la Rifampicine, ainsi que l'identification des principaux facteurs de risques associés .

Etude moléculaire de la résistance à l'Isoniazide des bacilles du complexe Mycobacterium tuberculosis

Cette étude prospective est menée auprès de 100 patients ayant une tuberculose (pulmonaire ou extra pulmonaire , nouveaux cas ou antérieurement traités) dans la région de Marrakech (CDTMR et hôpital militaire AVICENNE).



*MATERIEL ET
MÉTHODES*



I. Type et Cadre d'étude

Il s'agit d'une étude prospective incluant 100 patients suivis pour tuberculose pulmonaire ou extra pulmonaire, nouveaux cas ou antérieurement traités , confirmée avec culture positive.

Notre étude s'est étalée sur 2 ans de janvier 2015 au décembre 2016 . effectuée dans la région de Marrakech,

Le cadre opérationnel de cette étude était constitué par le laboratoire de Microbiologie de l'hôpital Militaire AVICENNE Marrakech, le centre de diagnostic et traitement des maladies respiratoires de Marrakech (CDTMR).

II. Objectifs de l'étude

1. Objectif principal

Déterminer la prévalence de la résistance du Mycobacterium tuberculosis à l'isoniazide chez les cas de tuberculose (pulmonaire ou extra pulmonaire , nouveaux cas ou antérieurement traités).

2. Objectifs spécifiques

- ❖ vérifier la simultanéité de la résistance à l'Isoniazide et à la Rifampicine .
- ❖ comparer la sensibilité des techniques d'identification du *Mycobacterium tuberculosis* (l'examen direct et l'étude moléculaire) .
- ❖ discuter les conditions prédisposant à une tuberculose résistante à l'Isoniazide .

III. Critères d'inclusion et d'exclusion

1. Critères d'inclusion

Les patients seront sélectionnés suivant les critères suivants :

- patients suivis pour tuberculose pulmonaire (TPM+ , TPM0) ou extra pulmonaire (TEP), confirmée avec culture positive interprétable sur milieu solide , nouveaux cas ou antérieurement traités
- résidents à la région de Marrakech

2. Critères d'exclusion :

- TPM+ , TPM0 et TEP avec culture négative
- Résultats de culture non interprétables

3. Recueil des données :

Le recueil des données de chaque patient s'est fait par l'exploitation minutieuse des dossiers médicaux et les registres du laboratoire.

Les renseignements recueillis ont été notés sur une fiche d'exploitation (annexe) prenant en considération les éléments suivants :

- Nom et prénom
- L'âge des patients
- Le sexe des patients
- Origines des patients
- Localisation de la maladie
- Antécédent de traitement
- Conditions prédisposant à la tuberculose
- Microscopie positive
- Culture sur LJ

- Identification des souches isolées
- La symptomatologie clinique
- Les données paraclinique
- Identification des souches résistantes faites au laboratoire de CDTMR et à l'hôpital Militaire Avicenne Marrakech
- Evolution de la maladie sous traitement

IV. Considération éthique :

Nous avons recensé les données en respectant l'anonymat des patients , ainsi que la confidentialité de leurs informations après agrément .

V. Matériels de laboratoire

Il était composé de :

- **Pour la microscopie** : le microscope binoculaire de marque Olympus CX31®, les consommables et réactifs habituels du Ziehl–Armand (acide , alcool , fuschine, le bleu de méthylène, les filtres, les lames et le coton).
- **Pour la culture**: milieu solide : Lowenstein–Jensen (LJ), LJ + pyruvate de sodium à 0,2%, LJ + Acide Thiophène Carboxylique (TCH), Réactifs: soude à 4%, nitrates, nitrate de sodium, Griess A et Griess B, eau oxygénée, tween 80

Méthodes moléculaire d'identification et de recherche de la résistance

- **Appareil GeneXpert MTB/RIF**

Le GeneXpert MTB/RIF est un système basé sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel qui détecte l'ADN de *Mycobacterium tuberculosis* et les mutations qui confèrent la résistance à la RIF en moins de 120 minutes à partir d'échantillons cliniques [3] . Pour détecter les souches du complexe MTB et les mutations associées à la résistance à la RIF, la région centrale cible de 81 pb du gène rpoB est amplifiée et couplée avec cinq balises moléculaires ou probes (A, B, C, D, E de type « beacons ») qui se chevauchent le long de la

séquence cible [4,5] . Les culots de décontamination ont été testés au GeneXpert MTB/RIF suivants les instructions du fabricant [6]

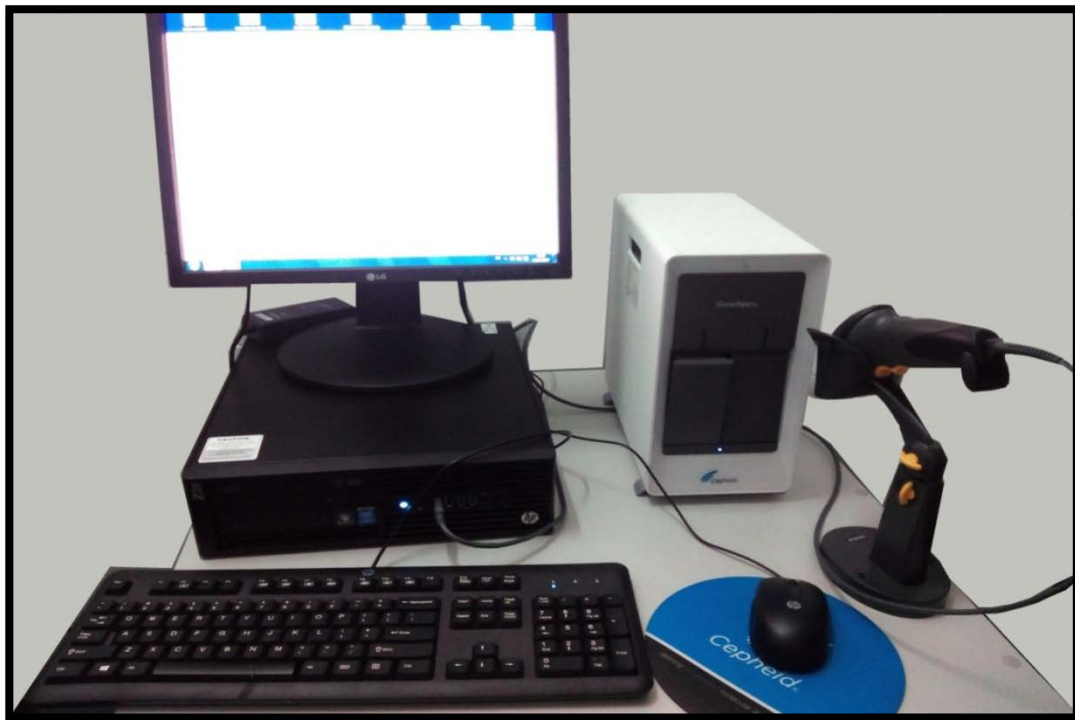


Figure 1 : Appareil GeneXpert MTB/RIF du laboratoire de de Microbiologie de l'hôpital Militaire AVICENNE Marrakech

• **Test GenoType® MTBDRplus *Hain Lifescience***

Le test GenoType® MTBDRplus permet après amplification, l'identification du complexe *M. tuberculosis* et la détection des résistances à la rifampicine et/ou à l'isoniazide d'une mycobactérie du *complexe tuberculosis* cultivée sur un milieu liquide ou solide. Ce test peut aussi être réalisé directement à partir d'un prélèvement pulmonaire présentant un examen direct positif ou négatif.

L'identification de la résistance à la rifampicine est activée par la détection des mutations les plus importantes du gène *rpoB* (codant pour la sous-unité β de l'ARN polymérase). Pour tester la résistance à l'isoniazide de haut niveau, on examine le gène *katG* (codant pour la

peroxydase de la catalase) et on teste la faible résistance à l'isoniazide, on analyse la région du promoteur du gène *inhA* (codant pour la NADH enoyle ACP réductase).

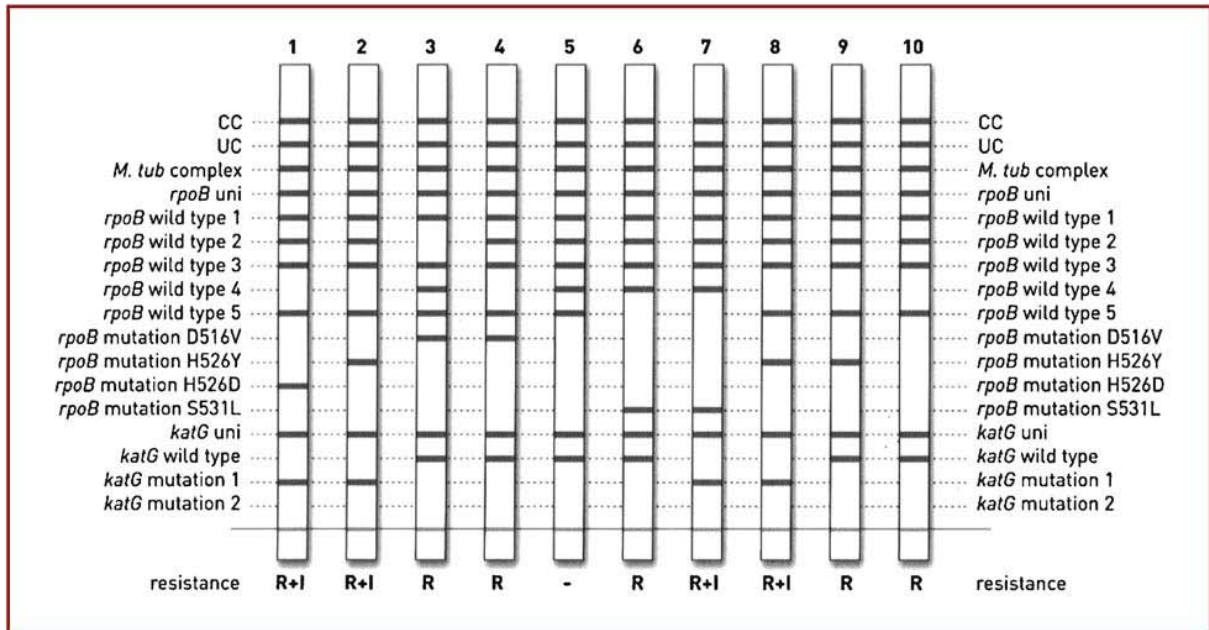


Figure 2 : Exemples de résultats de la recherche de mutation dans les gènes *rpoB* et *katG* par hybridation sur bandelette Genotype® MTBDRplus. [7]

Le GenoType MTBDRplus (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Allemagne) est un test moléculaire de seconde ligne contenant des sondes spécifiques pour le complexe de *M. tuberculosis*, ainsi que des sondes pour des mutations communes à la rifampicine (RIF) et un sous-ensemble des mutations conférant une résistance Isoniazide (INH). Pour le test MTBDRplus, une méta-analyse a montré une sensibilité et une spécificité groupées de 98,4% et 98,9%, respectivement, pour la détection de la résistance au RIF et 88,7% et 99,2%, respectivement, pour la détection de la résistance à l'INH, bien que la quasi-totalité des études inclus des isolats cultivés ou des échantillons respiratoires à frottis positifs [8]. Une étude de validation initiale a montré non seulement que MTBDRplus était précis pour la détection de la résistance à partir de spécimens respiratoires à frottis positifs, mais a également suggéré que le dosage avait une bonne précision lorsqu'il était appliqué à des échantillons respiratoires à frottis négatifs qui

contenaient *M. tuberculosis* en culture; 16/20 (80%) ont donné des résultats interprétables pour le RIF, et 14/19 (74%) ont donné des résultats interprétables pour INH [9].



Figure 3 (a)



Figure 3 (b)



Figure 3 (c)

Figure 3 : (a) , (b) et (c) Matériel du test GenoType® MTBDRplus (*Hain Lifescience*) du laboratoire du centre de diagnostic et traitement des maladies respiratoires de Marrakech (CDTMR).

VI. Déroulement de l'étude :

Au cours de notre étude, 3 échantillons de crachats étaient recueillis, par chaque malade inclus , après un effort de toux selon les directives du guide technique du programme national de tuberculose (PNT). Le premier prélèvement est effectué sous la supervision d'un infirmier et les autres prélèvements sont faits le matin au réveil par le patient , dans des crachoirs. En attendant d'être acheminés, ces échantillons étaient systématiquement conservés au réfrigérateur entre +4 et +8°C pour minimiser la prolifération des germes banaux.

Les prélèvements d'expectorations ont servi à la culture des mycobactéries et les cultures positives ont fait l'objet d'une étude moléculaire d'identification du *Mycobacterium tuberculosis* et à la recherche de bacilles résistant par **test GenoType® MTBDRplus *Hain Lifescience*** et **GeneXpert MTB/RIF** (l'étude moléculaire est faite à rabat au Institut National d'Hygiène pour les prélèvements de 2015 et au CDTMR et au laboratoire de Microbiologie à l'hôpital Militaire Avicenne Marrakech pour les prélèvements de 2016)

VII. Analyse des échantillons et description des procédures

1. Examen microscopique direct



Figure 4 : Microscope binoculaire de marque Olympus CX31® du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital Militaire Avicenne Marrakech

Les frottis sont préparés par étalage sur lames des différents échantillons. Ils sont ensuite colorés par la méthode de Ziehl–Armand, variante de la technique de Ziehl–Neelsen . Les lames sont observées à l'immersion au microscope optique (x 100).

2. Etapes de la coloration de Ziehl–Armand

2.1 Coloration par la fuchsine phéniquée de Ziehl

- Placer la lame fixée sur la barre métallique au dessus du l'évier, le frottis tourné vers le haut
- Recouvrir le frottis de la solution de la fuchsine phéniquée filtrée
- Laisser la lame recouverte d'une solution de fuchsine pendant 5 mn
- Rejeter le colorant et rincer le frottis à l'eau du robinet puis laisser la lame recouverte d'eau jusqu'à l'étape suivante.

- Recouvrir le frottis de la solution de bleu de méthylène
- Attendre une minute
- Rejeter le bleu de méthylène et rincer à l'eau du robinet
- Sécher le frottis à l'air ambiant (sur un râtelier).

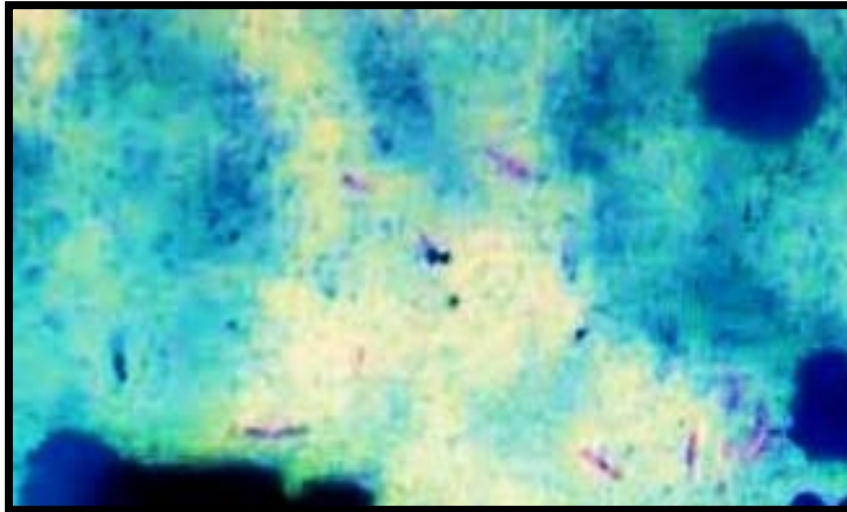


Figure 5 : Aspect de *Mycobacterium tuberculosis* après coloration (photo prise au laboratoire de Microbiologie à l'Hôpital Militaire Avicenne)

2.2 Expression des résultats de lecture des frottis

Les données chiffrées obtenues sont exprimées en croix en se référant au tableau de correspondance ci-dessous :

Tableau I : Interprétation des résultats des frottis (microscopie optique) [10]

Nombre de BAAR comptés	Résultats	interprétation
0 BAAR/ 100 champs	NEG	Frottis négatif
1-9 BAAR/ 100 champs	1-9 (noter le chiffre exact)	Rares BAAR
10-99 BAAR/ 100 champs	+	Frottis positif
1-10 BAAR/ champ, dans au moins 50 champs	++	Frottis riche
>10 BAAR/ champ, dans au moins 20 champs	+++	Frottis très riche

3. Traitement et mise en culture

L'isolement des mycobactéries à partir de produits pathologiques souillés nécessite la mise en œuvre de procédés de décontamination susceptibles de concilier une action énergique vis-à-vis de la flore banale et une agressivité très faible vis-à-vis des mycobactéries. La méthode utilisée pour la décontamination des échantillons d'expectorations était celle de Pétroff à la soude.

3.1 Mode opératoire

Après enregistrement des échantillons à manipuler, travailler sous une hotte de sécurité microbiologique en respectant les étapes suivantes :

- Identifier les échantillons de crachats sur le corps des tubes coniques de 50 ml à l'aide d'un marqueur indélébile ;
- Mettre un volume donné de crachats (volume de 2 cc recommandé) dans le tube à centrifuger de 50 ml en plastique à vis
- Y ajouter la solution d'acide oxalique à 5% (généralement le mélange se fait à volume égal).
- Fermer hermétiquement le tube contenant le crachat plus la solution d'acide oxalique
- Agiter vigoureusement au vortex jusqu'à parfait mélange ;

- Ensuite, agiter sur agitateur de Kahn pendant 15 à 20 minutes puis ;
- Ajouter une quantité suffisante d'eau distillée stérile au mélange crachat-acide oxalique (le volume final sera d'environ 40–45 ml) ;
- Fermer hermétiquement le tube et agiter vigoureusement au vortex jusqu'à parfait mélange et passer à la centrifugeuse réfrigérée
- Centrifuger à 3000 trs/mn pendant 20 minutes (1ère centrifugation);
- Verser avec attention le surnageant à la fin de la centrifugation dans un bocal contenant de l'eau de javel ;
- Ajouter une quantité suffisante d'eau distillée stérile au culot de centrifugation ;
- Fermer hermétiquement le tube, et agiter sur vortex jusqu'à parfait mélange;
- Centrifuger à 3000 trs /mm pendant 20 minutes (2ème centrifugation)
- Verser le surnageant à la fin de la centrifugation dans un bocal contenant de l'eau de javel ;
- Ajouter une quantité suffisante d'eau distillée stérile au culot de centrifugation ;
- Fermer hermétiquement le tube, et agiter sur vortex jusqu'à parfait mélange;
- Centrifuger à 3000 trs/mm pendant 20 minutes (3ème centrifugation) ;
- Verser le surnageant à la fin de la centrifugation dans un bocal contenant de l'eau de javel, en laissant une petite quantité de surnageant sur le culot ;
- Remettre le culot en suspension à l'aide d'une pipette de transfert stérile;
- Ensemencer quatre tubes de milieu (2 tubes LJ ordinaire + 2 tubes LJ pyruvate) à raison de 2 à 4 gouttes par tube pour chaque échantillon ;
- Faire un frottis sur la lame correspondante avec deux gouttes pour chaque culot d'échantillon pour l'examen direct (recherche des BAAR dans les culots obtenus) ;
- Placer les tubes à moitié fermés en position inclinée sur une clayette et les incuber à l'étuve à une température de 37°C.

3.2 La lecture des cultures sur milieu solide se fait de la façon suivante :

- Examiner les tubes au 3ème jour d'incubation ;
- Fermer les tubes si le produit à sécher sur le milieu ;
- Noter également les cas de contamination éventuelles ;
- Examiner ensuite les tubes aux jours 3, 7, 14, 21, 28 et 42;
- Noter l'aspect et le nombre de colonies en cas de culture positive ;
- Noter que la culture est négative avec la date de lecture, si au 60ème jour on n'observe aucune pousse ;
- Laisser les tubes à l'étuve pour 30 jours supplémentaires pour permettre la croissance de certaines mycobactéries à croissance difficile.



Figure 6 (a)



Figure 6 (b)

Figure 6 (a) et (b). Colonies de mycobactéries en culture sur milieu de Löwenstein- Jensen. [11]

(a) : *M. tuberculosis* donne des colonies rugueuses, friables, en chouffleur, opaques, de couleur beige crème et se détachant facilement du milieu de culture.[11]

(b): certaines mycobactéries atypiques donnent des colonies lisses, plus ou moins enchâssées dans le milieu et parfois pigmentées [11].

3.3 Examen microscopique direct sur culture

Les cultures sont préparées par étalage sur lames des différents échantillons. Ils sont ensuite colorés par la méthode de Ziehl–Armand . Les lames sont observées à l'immersion au microscope optique (x 100).

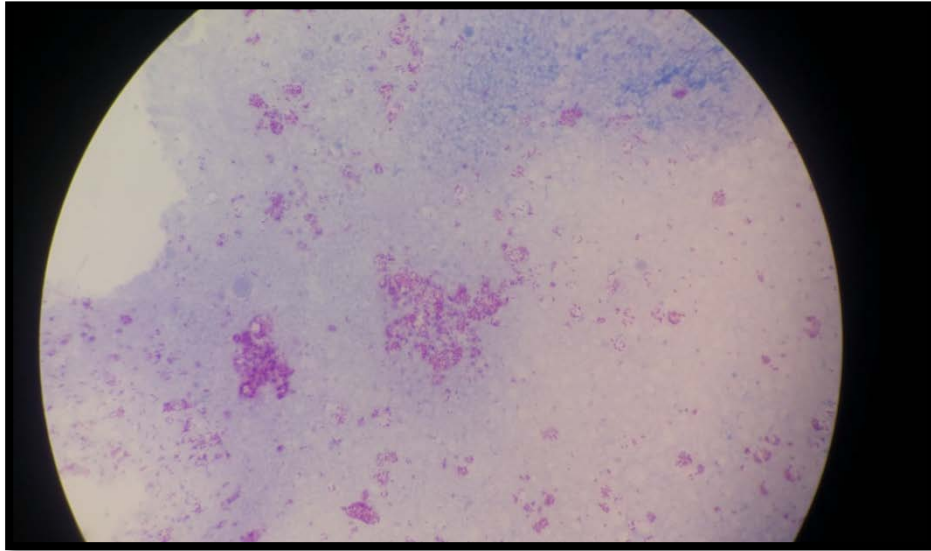


Figure 7 : Aspect de *Mycobacterium tuberculosis* sur examen microscopique direct d'une culture positive (photo prise au laboratoire de Microbiologie à l'Hôpital militaire AVICENNE)

4. Etude moléculaire :

4.1 Test GeneXpert MTB/RIF

À partir d'une culture positive sur milieu solide , le test d'identification du *Mycobacterium tuberculosis* et de la détection de la résistance moléculaire à la RIF a été effectué en utilisant le GeneXpert MTB/RIF.

4.1-1 Matériel et Protocole d'utilisation

- Flacons stériles pour le recueil des échantillons
- Gants jetables *non poudrés*
- Etiquettes ou marqueurs indélébiles

- Sous hotte
- 2 ml de solution PBS dans le flacon stériles
- Ajouter un échantillon de la culture dans la solution PBS
- Verser 2 ml de réactif
- Agiter le mélange
- Laisser reposer 10 mn
- Agiter de nouveau
- Laisser reposer 5 mn
- Sur la paillasse, pendant les 5mn d'attente, déballer la cartouche en faisant *attention à la partie PCR*
- Marquer le nom sur le côté de la cartouche
- Ouvrir son couvercle
- Retirer de son emballage la pipette plastique fournie
- Prélever 2mL d'échantillon liquéfié avec le réactif
- Déposer 2 mL dans la cartouche
- Créer le test
- Scanner le code barres de la cartouche
- Entrer le nom du patient
- Poser la cartouche dans le module dont le voyant vert clignote et pousser la porte.
- Le test démarre et le voyant vert cesse de clignoter.
- Durée : 1h52
- Le voyant s'éteint quand le test est terminé Après 1h52, le test est terminé
- Sortir la cartouche usagée à éliminer comme les substances dangereuses

4.1-2 Résultats

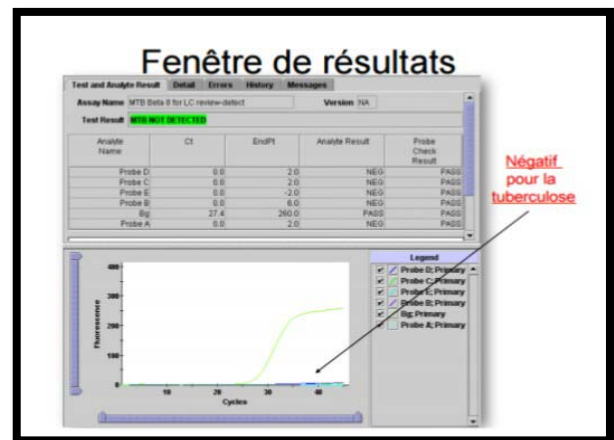


Figure 8 (a) : MTB détecté sans résistance à la RIF

Figure 8 (b) : MTB non détecté

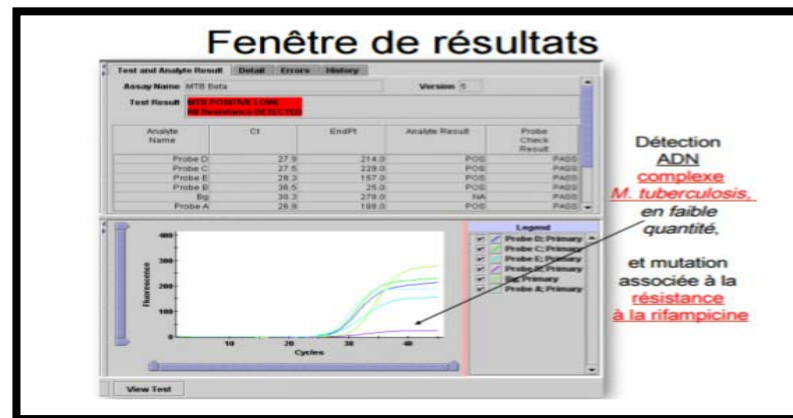


Figure 8 (c) : MTB détecté avec résistance à la RIF

Figure 8 (a) (b) et (c) : Exemples des fenêtres de résultats du test GeneXpert MTB/RIF [12]

4.2 .Protocole d'utilisation du test GenoType® MTBDRplus :Hain Lifescience

À partir d'une culture positive sur milieu solide, le test de détection de la résistance moléculaire à la RIF et à l'INH a été effectué en utilisant le kit Genotype MTBDRplus version 2.0 de Hain lifescience,

4.2-1 Préparation de L'ADN

L'espace de travail doit être exempt de toute trace d'ADN amplifié (pièce « grise »).

La version MTBDRplus 2.0 est vendue avec le kit de préparation de l'ADN « GenoLyse ».

Protocole du kit GenoLyse :

- 1) A partir de prélèvements cliniques, utiliser 500µl d'échantillon décontaminé (les échantillons doivent être traités par NALC/NaOH). Centrifuger pendant 15mn à 10000 x g sur une centrifugeuse de paillasse à l'aide d'un rotor protégeant contre les aérosols dans un environnement sécurisé de classe II. Jeter le surnageant et reprendre le culot dans 100 µl d'eau. Vortexer.
- 2) Ensuite, incuber les bactéries 20mn à 95°C (bain-marie bouillonnant).
- 3) Centrifuger 5mn à vitesse maximale. Utiliser directement 5 µl de surnageant pour la

PCR. Si la solution d'ADN doit être conservée de façon prolongée, transférer le surnageant dans un nouveau tube.

4.2-2 Amplification

Préparer le mélange réactionnel dans une pièce exempte d'ADN (pièce « blanche »).

MTBDRplus version 2.0 :

* Distribuer dans chaque tube :

- 10 µl Amplification Mix A (AM-A)
- +35 µl Amplification Mix B (AM-B)
- Mélanger doucement avec la pipette
- Sortir de la « pièce blanche » avec les tubes de mélange sur un portoir jetable.
- Dans la « pièce grise », ajouter dans chaque tube 5 µl de l'ADN à tester extrait par la méthode GenoLyse pour la version 2.0.

Centrifuger brièvement

- ❖ Les produits d'amplification peuvent être stockés à +8°C to 20°C
- ❖ Les amplicons produits présentent des longueurs respectives de 63bp (contrôle d'amplification), de 115bp (complexe *M. tuberculosis*), de 166bp (*rpoB*), de 20bp (*katG*) et de 110bp (*inhA*).
- ❖ L'électrophorèse sur gel d'agarose est optionnelle.

4.2-3 Hybridation

L'hybridation se pratique dans la pièce de manipulation de l'ADN amplifié « pièce noire ».

Préparation

- Préchauffer le bain-marie agitateur/Twincubator à 45°C (dérivation maximale : +/-1°C).
 - Préchauffer les solutions HYB et STR à 27-45°C avant utilisation. Les réactifs ne doivent présenter aucun précipité (à noter cependant que la solution CON-D est opaque). Si besoin, agiter.
 - Laisser les autres réactifs (à l'exception des solutions CON-C et SUB-C) à température ambiante.
 - Dans un tube approprié, diluer le Conjugué Concentré (CON-C, orange) et le Substrat Concentré (SUB-C, jaune) au 1:100 dans un volume adéquat du tampon correspondant (CON-C avec CON-D, SUB-C avec SUB-D). Bien homogénéiser et laisser à température ambiante. Pour chaque échantillon testé, ajouter 10µl de concentré à 1ml de tampon. Diluer CON-C avant chaque utilisation. Une fois dilué, SUB-C reste stable pendant 4 semaines conservé à température ambiante et à l'obscurité.
- 1) Déposer 20µl de Solution de Dénaturation (DEN, bleu) à une extrémité de chaque puits utilisé.
 - 2) Ajouter 20µl d'échantillon amplifié et mélanger les deux solutions par pipetages répétés. Incuber 5mn à température ambiante.

- 3) Pendant ce temps, à l'aide d'une pince, sortir du tube le nombre approprié de bandelettes (STRIPS), et inscrire au crayon leur numéro d'identification dans l'espace situé sous le marquage coloré. Toujours porter des gants pour manipuler les bandelettes.
- 4) Ajouter dans chaque puits 1ml de Tampon d'Hybridation (HYB, vert) préchauffé et homogénéisé. Doucement agiter le bac jusqu'à ce que le mélange prenne une coloration homogène. Eviter les éclaboussures vers les autres puits.
- 5) Déposer une bandelette dans chaque puits utilisé.

Les bandelettes doivent être entièrement recouvertes par le liquide, avec la face marquée (identifiable par le marquage coloré) tournée vers le haut. Les bandelettes mal orientées doivent être remises en position à l'aide de pincettes propres. Afin d'éviter toute contamination, bien nettoyer les pincettes après chaque utilisation. Cela vaut aussi pour toutes les étapes suivantes.

- 6) Placer le bac dans bain-marie agitateur/TwinCubator et incuber 30mn à 45°C. Pour le bain-marie agitateur, sélectionner une fréquence d'agitation suffisante pour assurer un bon brassage du tampon. Ajuster le niveau de l'eau dans le bain-marie agitateur au moins à un tiers de la hauteur du bac de façon à assurer un bon transfert de chaleur. Cela vaut aussi pour toutes les étapes suivantes.
- 7) Aspirer le Tampon d'Hybridation Utiliser par exemple une pipette Pasteur reliée à une pompe vide.
- 8) Ajouter à chaque puits 1ml de Solution de Lavage Stringent (STR, rouge) et incuber 15mn à 45°C dans le bain-marie agitateur/TwinCubator.
- 9) A partir de cette étape, travailler à température ambiante. Vider la Solution de Lavage Stringent. Eliminer tout le liquide résiduel en retournant la plaque sur du papier absorbant (effectuer de même pour les autres étapes du lavage).
- 10) Laver chaque puits avec 1ml de Solution de Rinçage (RIN) et incuber pendant 1mn sous agitation (TwinCubator/plateau agitateur). Vider la Solution de Rinçage par retournement de la plaque sur un container à déchets.

- 11) Ajouter à chaque puits 1ml de Conjugué dilué et incuber 30 mn sous agitation (TwinCubator/plateau agitateur).
- 12) Vider le contenu des puits et rincer sous agitation 1mn à l'aide de 1ml de Solution de Rinçage (RIN). Vider RIN. Répéter ce rinçage une nouvelle fois, puis rincer une fois avec environ 1ml d'eau distillée à l'aide d'une pissette. Bien éliminer toute trace d'eau dans les puits après cette première étape.
- 13) Ajouter 1ml de Substrat dilué dans chaque puits et incuber sans agitation à l'obscurité (recouvrir d'un papier d'aluminium). Le temps de révélation peut varier en fonction des conditions de déroulement du test (de 3 à 20 mn), notamment de la température de la pièce. Des temps de révélation trop longs peuvent entraîner un bruit de fond qui peut gêner l'interprétation des résultats.
- 14) Arrêter la réaction en rinçant brièvement deux fois à l'eau distillée.
- 15) A l'aide de pincettes, récupérer les bandelettes et les sécher entre deux couches de papier absorbant.
- 16) Scotcher les bandelettes sur la feuille de résultats
- 17) Lecture et interprétation selon les abaques

VIII. Analyse statistique :

Les données recueillies ont été saisies et codées sur le logiciel Microsoft Office Excel 2013 , l'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS statistics 17.0 ; les variables quantitatives ont été exprimées en moyenne \pm écart-type ou en médiane et percentiles , tandis que les variables qualitatives ont été exprimées en effectif et pourcentage . Nous avons subdivisé notre échantillon en deux groupe, pour l'étude des facteurs de risque : groupe des patients ayant une tuberculose résistante à l'INH (INH 'R') et groupe des patients ayant une tuberculose sensible à l'INH (INH 'S'). Pour l'analyse statistique univariée , nous avons utilisé le test-t de student et le khi-2 . Pour l'analyse multivariée, nous avons utilisé la régression logistique multiple . Un $p < 0.05$ a été considéré comme significatif.



RESULTATS



I. Caractéristiques générales de la population étudiée :

1. Données démographiques

L'étude a porté sur 100 patients traités pour tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire nouveaux cas ou antérieurement traités avec culture positive , l'âge moyen du patients est de 41.14 avec des extrêmes allant de 14 à 82 , avec une prédominance de tranche d'âge jeune [30-45[(figure 9), et de sexe masculin 80% (80/100) (figure 10), le sexe ratio est de 4 .

Tableau II : Caractéristiques démographiques des patients inclus

Nombre de patients inclus	100
Age moyen (année)	41.14
Sexe masculin (n/%)	80 (80%)
Sexe féminin (n/%)	20 (20%)

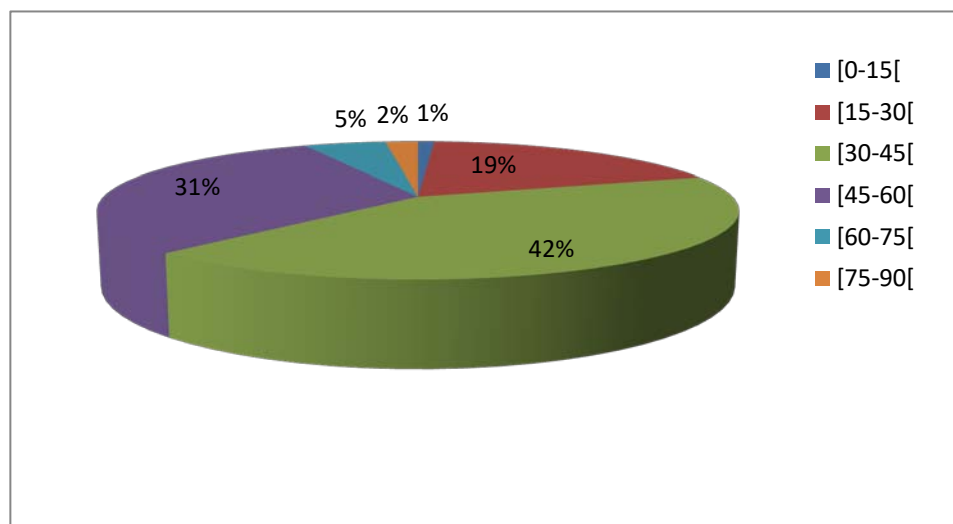


Figure 9: Répartition selon les tranches d'âge des malades inclus

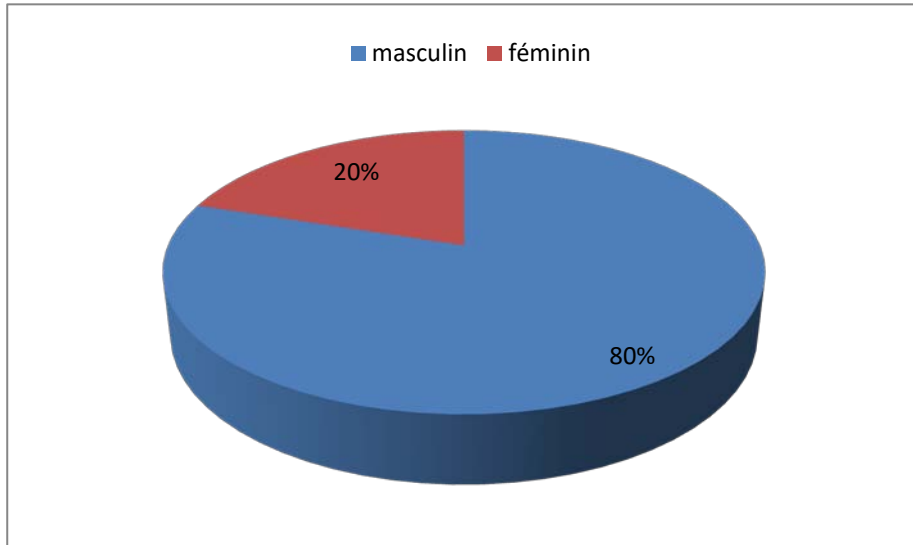


Figure10 : Répartition selon le sexe des malades inclus

Les patients étaient d'origines différentes, 82% de Marrakech (82/100), 7% (7/100) de Chichaoua, 5% (5/100) de Lhaouz, 2% (2/100) de Lkalaa, 1% (1/100) de Essaouira, 1% (1/100) de Tahenaout, 1% (1/100) de Safi et 1% (1/100) de Benimellal. (figure 11)

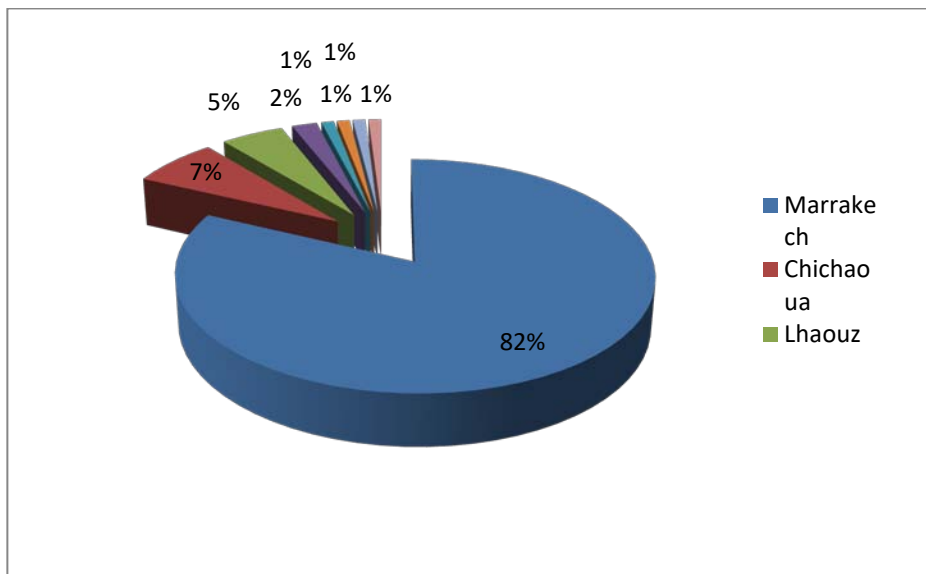


Figure 11: Répartition selon l'origine des malades inclus

2. Données cliniques :

2.1 Nouveaux cas / Antérieurement traités

Parmi les patients inclus dans notre étude , les cas antérieurement traités représentent 68% (68/100) des cas dont 4% d'arrêt de traitement et 64 % de rechute , et les nouveaux cas représentent 32% (32/100) des cas . (tableau III)

Tableau III : Répartition des malades inclus selon les nouveaux cas et les cas antérieurement traités

Nouveaux cas N (%)	Antérieurement traités	
	Arrêt de traitement N(%)	Rechute N (%)
32 (32%)	4 (4%)	64 (64%)

2.2 Antécédents et conditions prédisposant à la tuberculose

L'étude des dossiers des patients a révélé que 48 parmi les 100 patients recrutés , (soit 48%), avaient des antécédents pathologiques et conditions prédisposant à la tuberculose , et 52 (soit 52%) n'avaient pas d'antécédents pathologiques particuliers ni conditions prédisposant . (tableau IV)

Tableau IV : Antécédents et conditions prédisposant à la tuberculose

Paramètres	N (%)
Cachexie	1 (1%)
Ethylisme	2 (2%)
Bas niveau socio économique	23 (23%)
Traitement immunosuppresseur	1 (1%)
Diabète	4(4%)
Sujets âgés	7(7%)
Tabagisme	28(28%)
Infection VIH positive	3(3%)
Contage tuberculeux	4 (4%)

3. Données bactériologique

3.1 Nature de prélèvement

La nature du prélèvement diffère selon la localisation de la tuberculose , en effet on avait 90% d'expectoration pulmonaire , 3% liquide pleural , 3% pus , 2% aspiration bronchique , 1% biopsie pleural , 1% urine

Tableau V : Nature des prélèvements

Nature de prélèvement	N (%)
Expectoration	90(90%)
Liquide pleural	3(3%)
Pus	3(3%)
Aspiration bronchique	2(2%)
Biopsie pleural	1(1%)
Urine	1(1%)

3.2 Examen direct :

L'examen direct chez nos patients était positif dans 71% des cas et négatif dans 29 % des cas (figure 12).

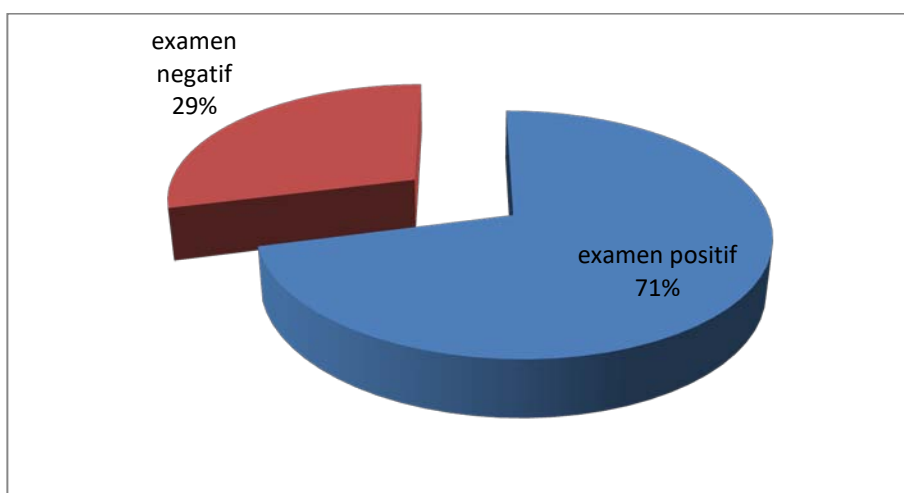


Figure 12 : Examen microscopique direct chez les patients inclus

3.3 Diagnostic :

Parmi les patients inclus dans notre étude, la tuberculose était pulmonaire à microscopie positive (TPM+) chez 70% des cas (70/100) , pulmonaire à microscopie négative (TPM0) chez 22 % (22/100) et extra pulmonaire chez 8 % (8/100) des cas . (Figure 13)

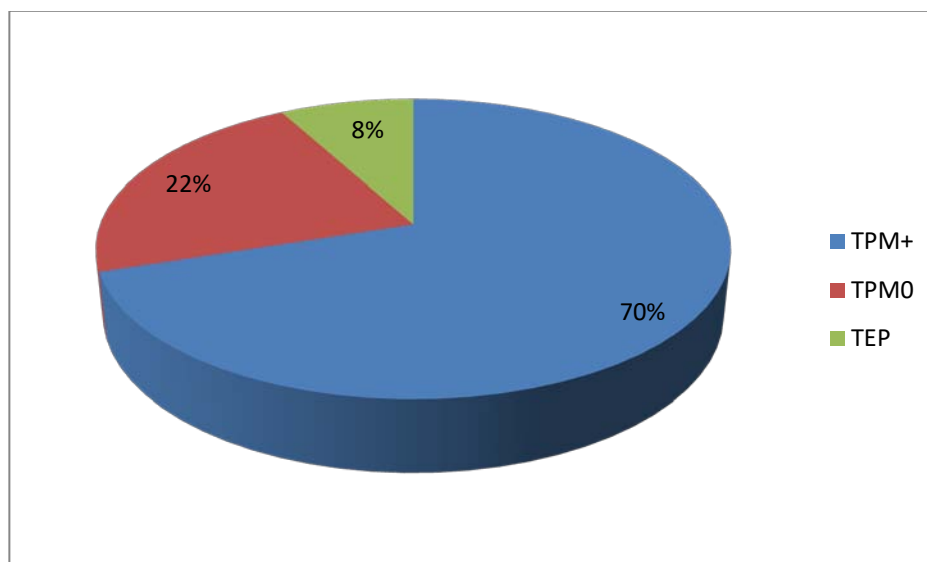


Figure 13 : Localisation de la tuberculose chez malades inclus

4. Evolution de la maladie

Dans notre étude L'évolution sous traitement était marquée par la guérison dans 58 cas (soit 58%) et par l'abandon dans 4 cas (soit 4%) . 35 patients (soit 35%) sont toujours en cours de traitement , 2 cas de rechute (soit 2%) et 1 patient est décédé . (Tableau VI)

Tableau VI : Evolution de la maladie sous traitement chez les malades inclus

Evolution de la maladie	N(%)
Guérison	58 (58%)
En cours de traitement	35 (35%)
Rechute	2 (2%)
Abandon	4 (4%)
décès	1(1%)

5. Données de l'étude moléculaire

5.1 Identification

L'identification du complexe *Mycobacterium tuberculosis* par l'étude moléculaire trouve 96 (soit 96%) isolats MTB et 4 (soit 4%) sont non détectés suggérant une infection par une mycobactérie non tuberculeuse (MNT) ou un faux négatifs. (Figure 14)

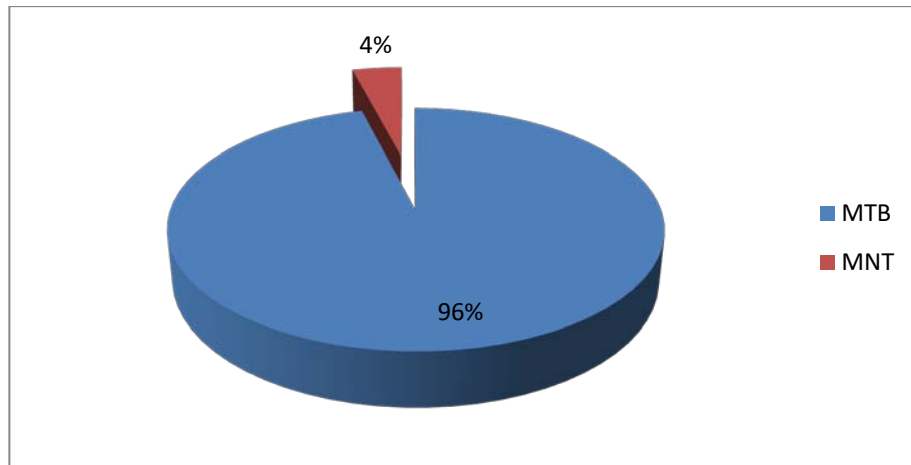


Figure 14: Identification du complexe *Mycobacterium tuberculosis* par l'étude moléculaire

5.2 Prévalence de la résistance à l'Isoniazide dans notre population d'étude

L'étude moléculaire a détecté 15 isolats, parmi 96 de MTB, résistants à l'Isoniazide (soit 15.6%) dont 2 présentent une résistance de bas niveau, et 81 (soit 84.4%) sensibles. (figure 15)

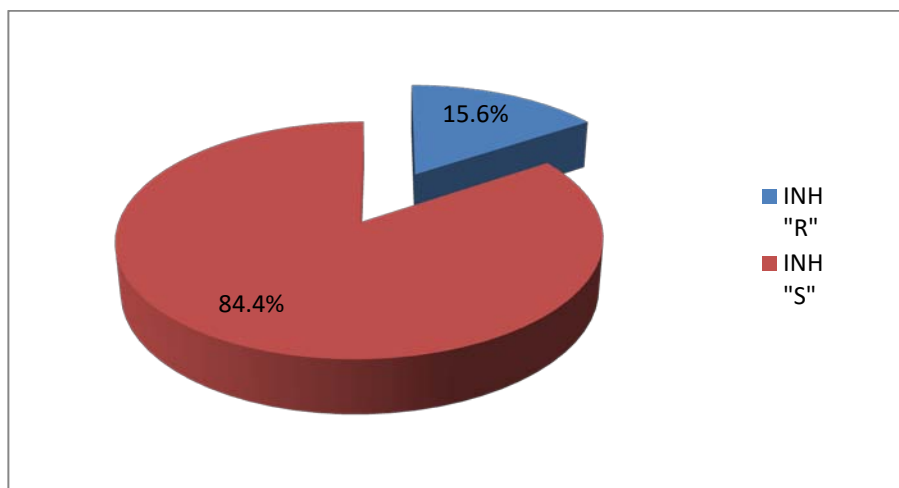


Figure 15 : Prévalence de la résistance à l'Isoniazide dans notre population d'étude

5.3 Simultanéité de la résistance du mycobactérium tuberculosis à l'Isoniazide et à la Rifampicine

Parmi les 96 souches MTB, 15 (soit 15.6 %) sont résistants à la Rifampicine dont 12 sont à la fois résistants à l'Isoniazide et à la Rifampicine, donc la résistance à l'Isoniazide est accompagnée à la résistance à la rifampicine dans 80% des cas. (Tableau VII)

Tableau VII : Résistance simultanée à l'Isoniazide et à la Rifampicine

Résistance simultanée	N (%)	P*
RIF 'R' INH 'R'	12 (80%)	< 0.0001
RIF 'R' INH 'S'	3 (20%)	

6. Comparaison et description des populations INH 'R' et INH 'S'

Dans cette étude deux groupes de malades ayant une tuberculose pulmonaire ou extra pulmonaire sont comparés : ceux qui ont une souche résistante à l'INH et ceux qui ont une souche sensible à l'INH.

6.1 Données démographiques :

La moyenne d'âge dans le groupe des patients ayant une tuberculose résistante à l'INH est de 44 ans avec des extrêmes allant de 21 et 82 ans , et elle est de 40.61 ans avec des extrêmes allant de 14 à 74 ans dans le groupe des patients ayant une tuberculose sensible à l'INH : la différence entre les deux groupe n'est pas significative (p= 0.07)

La tranche d'âge la plus concernée se situait entre [30-45[(figure 16)

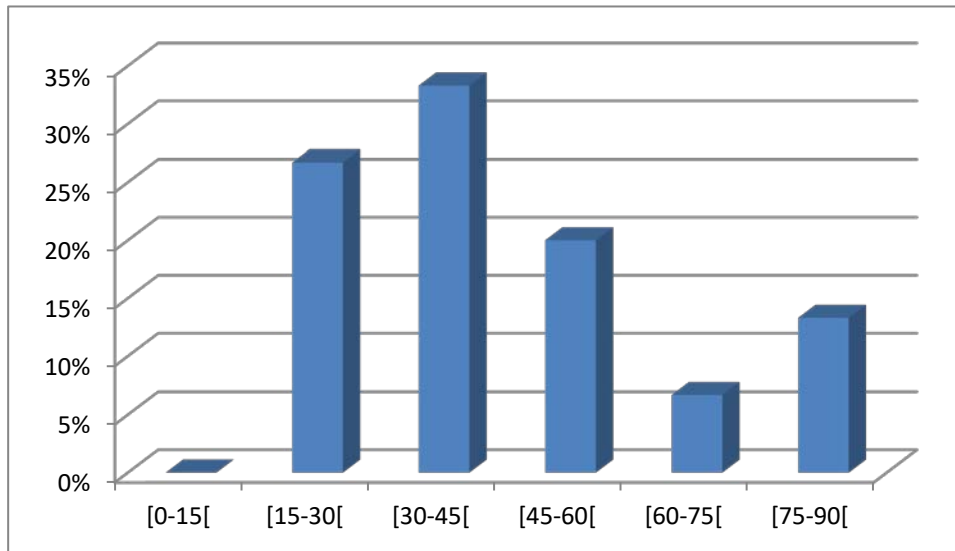


Figure 16 : Répartition par tranche d'âge des malades ayant une tuberculose résistante à l'Isoniazide

Le sexe masculin était majoritaire dans les deux groupes, parmi les patients ayant une tuberculose résistante à l'INH on note une prédominance masculine marquée 10 hommes soit 66.7% contre 5 femmes soit 33.3% , ainsi qu'au chez les patients ayant une tuberculose sensible à l'INH la prédominance masculine est aussi marquée avec 67 hommes soit 82.7% : (tableau VIII) la différence entre les deux groupes n'est pas significative (p=0.16)

Tableau VIII : Tableau comparative de la répartition selon le sexe entre les patients ayant une tuberculose résistante et sensible à l'Isoniazide

	Homme N (%)	Femme N (%)	P*
INH 'R'	10 (66.7%)	5 (33.3%)	0.16
INH 'S'	67 (82.7)	14 (17.3%)	

6.2 Facteurs de risque liés à la résistance à l'Isoniazide

l'analyse multivariée par la régression logistique multiple de plusieurs facteurs susceptibles d'être liés à la résistance à l'isoniazide nous a permis d'objectiver un seul facteur

de risque qui était lié à la résistance à l'INH de façon statistiquement significative , à savoir le traitement antérieure (P=0.0336 OR =7.2895 IC [1.0074;323.2416] RR=6.06) . (tableau VIII)

Tableau VIII: Analyse de facteurs de risque liés à la résistance à l'Isoniazide

Facteurs de risque	INH 'S' (n=81)	INH 'R' (n=15)	P*	IC à 95%	OR
Origine urbain rural	72/81 9/81	12/15 3/15	0.3931	[0.1041 ; 3.3034]	0.5043
Traitement antérieur Antérieurement traités Nouveau cas	53/81 28/81	14/15 1/15	0.0336	[1.0074;323.2416]	7.2895
Niveau socioéconomique Bas normal	18/81 63/81	5/15 10/15	0.3433	[0.4121 ; 6.5075]	1.7387
Diabète Diabétique Non diabétique	3/81 78/81	1/15 14/15	0.4991	[0.033 ; 24.934]	1.8427
Age Agé (>60) jeune	4/81 77/81	3/15 12/15	0.0741	[0.6129; 31.7299]	4.6969
Tabagisme Tabagique Non tabagique	23/81 58/81	5/15 10/15	0.7600	[0.3032 ; 4.5951]	1.2577
Sérologie VIH + VIH + VIH -	2/81 79/81	1/15 14/15	0.4028	[0.0447 ; 56.8636]	2.7807
Contage tuberculeux Notion de contage Pas de notion de contage	3/81 78/81	1/15 14/15	0.4991	[0.033 ; 24.934]	1.8427



DISCUSSION



I. Rappel :

1. Histoire de la tuberculose

La tuberculose est connue depuis des milliers d'années. On a d'ailleurs pu identifier des séquelles de cette maladie sur des momies égyptiennes. Les Grecs nommaient la tuberculose "phtisie". Si elle avait déjà été très bien décrite du temps d'Hippocrate, il a fallu attendre 1882 pour que Robert KOCH découvre le microbe responsable de cette terrible maladie dont on connaissait, par ailleurs, le caractère contagieux. Ce microbe a été dénommé le bacille de Koch, en l'honneur de celui qui l'a mis en évidence. La tuberculose devient un véritable fléau à la fin du 18^{ème} et au début du 19^{ème} siècle. A cette époque, la cure "hygiéno-diététique" et le repos dans des établissements spécialisés (sanatoria) étaient la seule chance de guérison pour les tuberculeux, car il n'existait pas encore de traitement médicamenteux. En Belgique, le premier sanatorium a ouvert ses portes en 1903 à Borgoumont dans la région de Liège.

En 1924, Albert CALMETTE et Camille GUERIN mettent au point un vaccin contre la tuberculose reposant sur l'injection de bacilles tuberculeux vivants mais de virulence atténuée appelés "Bacilles de Calmette et Guérin" ou « BCG ».

En 1944, S.A. WAKSMAN, un microbiologiste américain, découvre le premier antibiotique actif contre le bacille tuberculeux : la streptomycine. D'autres médicaments spécifiques seront découverts dans les 20 années qui suivent : l'isoniazide, l'acide para-aminosalicylique, le pyrazinamide, l'éthambutol et la rifampicine.

La disponibilité d'un traitement efficace a certainement eu un impact très favorable sur l'évolution de la tuberculose. Pourtant, la régression du nombre de cas avait commencé bien avant la découverte des antibiotiques à la suite de l'amélioration des conditions de vie de la

population. Ce fait illustre bien le caractère social de cette maladie dont l'apparition et l'évolution sont fortement liées à la pauvreté et à la promiscuité qui en découle très souvent.

2. Agent causal :

L'agent causal le plus fréquent de la tuberculose humaine est le *Mycobacterium tuberculosis*, également appelé BK pour « Bacille de Koch ». Dans certains cas, la tuberculose humaine peut être causée par une autre mycobactérie, telle que :

- ✓ *Mycobacterium africanum* : agent responsable, le plus souvent, de la tuberculose en Afrique de l'ouest [13].
- ✓ *Mycobacterium bovis* : agent responsable de la tuberculose chez les bovins et parfois chez l'homme [14].
- ✓ *Mycobacterium microti*, *caprae* et *pinnipedii* : agents responsables de la tuberculose chez les rongeurs, les chèvres et les mammifères marins [15].
- ✓ *Mycobacterium canetti* : agent responsable de tuberculose humaine (en particulier à Djibouti) [16].

Toutes ces mycobactéries, capables de causer la tuberculose, sont regroupées sous la dénomination « mycobactéries du complexe *M. tuberculosis* » . L'homologie entre leurs ADN est très élevée (>99,9%) [17,18].

Les autres mycobactéries sont appelées mycobactéries atypiques ou non-tuberculeuses. Ces mycobactéries sont omniprésentes dans l'environnement. Dans certaines circonstances (immunodépression, lésion, maladie préexistante,...), certaines d'entre elles peuvent devenir pathogènes pour l'homme. On parle dans ce cas d'infection opportuniste appelée aussi mycobactériose. Notons, par exemple :

- ✓ *Mycobacterium avium-intracellulare* : agent responsable de maladies respiratoires
- ✓ *Mycobacterium ulcerans* : agent responsable de l'ulcère de Buruli (nécroses chroniques de la peau et des tissus mous)

- ✓ *Mycobacterium marinum* : agent responsable d'infections cutanées torpides (maladie des aquariums)
- ✓ *Mycobacterium abscessus* : agent responsable d'infections cutanées et pulmonaires (notamment chez les patients mucoviscidosiques) [19]

En général, on classe dans une troisième catégorie, *M. leprae* et *M. lepraemurium*, les agents de la lèpre chez l'homme et le rat, caractérisés par leur incapacité à être cultivés *in vitro*.

3. Caractères bactériologiques

3.1 Caractères morphologiques

Mycobacterium tuberculosis est un fin bacille de 2 à 5 um de long sur 0,2 à 0,3 microns de large, légèrement incurvé, aux extrémités arrondies, non capsulé, non sporulé, immobile [20]. C'est une bactérie gram positif mais difficilement colorable par cette méthode. C'est leur richesse en lipides qui les rend imperméables surtout la présence de cires protectrices au niveau de la paroi, cette paroi comprend :

- **du peptidoglycane**
- **des lipopolysaccharides** constitués principalement de mycolate d'arabino-galactane (l'arabino-galactane est un haptène, l'acide mycolique est une très grosse molécule d'acide gras).
- **du dimycolate de tréhalose**, responsable d'un assemblage filamenteux en forme de corde (cultures en milieu liquide) et stimulant l'immunité.
- **les mycosides** (glycolipides et peptidoglycolipides)
- **des cires** dont certaines constituent l'adjuvant de Freund.

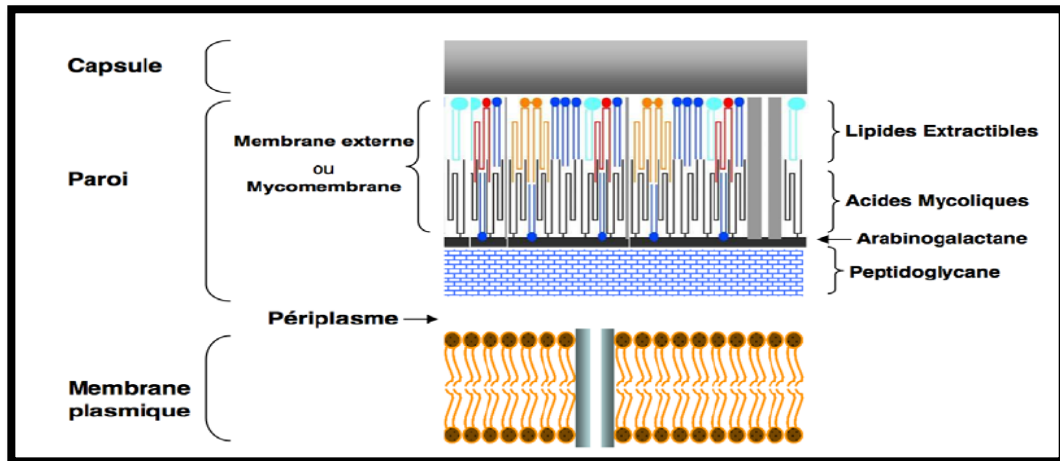


Figure 17 : Représentation de l'enveloppe des mycobactéries (Zuber et al.) [21]

3.2 Caractères cultureux

M.tuberculosis ne croît pas sur les milieux de culture ordinaires ; seuls les milieux qui contiennent du sérum, de la glycérine, de la pomme de terre glycinée, de l'œuf ou de l'albumine bovine permettent une culture abondante . Les milieux de culture les plus employés pour le diagnostic de la tuberculose sont les milieux solides à l'œuf de Löwenstein-Jensen , les milieux gélosés ou liquides de Middlebrook (7H0, 7H10, 7H11) supplémentés par de l'OADC (acide oléique, albumine, dextrose et catalase), et des milieux liquides dérivant du milieu de Youmans .

Le temps de division de *M.tuberculosis* étant de 20 heures en moyenne , 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 et un moyen de détection non optique (radiométrie, fluorescence...).

3.3 Caractères biochimiques

Des caractères biochimiques et enzymatiques constituent des caractéristiques biochimiques de l'espèce *M.tuberculosis* permettant son identification au sein du genre.

M.tuberculosis a une activité catalasique thermolabile (elle disparaît après chauffage pendant 20 minutes), une activité nitrate réductase et accumule de l'acide nicotinique, ce qui peut être révélé par l'épreuve à la niacine [22]. Ces trois caractéristiques sont les trois caractères biochimiques « types » de cette espèce.

3.4 Caractères antigéniques

La séquence complète du génome de *M.tuberculosis* H37Rv publiée en 1998 par Steward Cole et al. a permis d'expliquer certains caractères propres aux mycobactéries [23]. Comme chez l'ensemble des mycobactéries (excepté *M.leprae*), le génome de *M.tuberculosis* (4,5X10⁹ daltons, 4,4X10⁶ pb) se caractérise par une teneur en guanine et cytosine (G+C) élevée (65,6%).

Environ 4000 gènes ont été identifiés dans le génome de *M.tuberculosis* et 91% d'entre eux pourraient coder pour des protéines. Le génome de *M.tuberculosis* est riche en séquences répétées d'ADN, en particulier en séquence d'insertion IS6110, spécifiques du complexe *M.tuberculosis*. La position et le nombre de ces séquences sur le génome sont stables pour une souche donnée, mais variables d'une souche à l'autre. Cette particularité a été mise à profit pour développer l'analyse RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) du génome des souches de bacilles tuberculeux, utile dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques nécessitant la comparaison des souches.

Il existe 14 gènes *esx* codant pour les protéines antigéniques de la famille ESAT-6 (Early Secretory Antigenic Target 6). Cet antigène est fortement reconnu par les lymphocytes T humains et provoque une production d'interféron gamma en excès. Des études récentes ont démontrés que certains membres de la famille ESAT-6 seraient impliqués dans le pouvoir pathogène de *M.tuberculosis*. Dès lors, cette famille de protéines est considérée comme très intéressante d'un point de vue diagnostique, préventif (antigène protecteur) et thérapeutique (cible potentielle des médicaments) [24].

4. Caractères épidémiologiques

4.1 Mode de transmission

La tuberculose est une maladie infectieuse à transmission interhumaine transmet essentiellement par voie aérienne liée à *Mycobacterium tuberculosis* (bacille de Koch, BK). Le bacille se répand dans l'air quand un patient ayant une tuberculose pulmonaire expectore des particules infectieuses en toussant ou en éternuant ; ces particules , appelées **Gouttelettes de Flugge** , sèchent rapidement dans l'air, mais peuvent rester en suspension dans une pièce non aérée pendant environ 30 minutes, en conservant leur infectiosité . Si en théorie une seule particule infectieuse suffit pour transmettre la tuberculose, une exposition prolongée est en général nécessaire pour infecter un homme, l'effet « inoculum » jouant un rôle majeur dans le risque de transmission, toutefois, il n'existe pas de seuil minimal de durée mettant à l'abri du risque de transmission. Un contact unique est à risque en cas de manœuvres médicales .

Les autres modes de contamination telle la voie digestive ou cutanéomuqueuse sont exceptionnelles . Le *center for disease control* (CDC) d'Atlanta a rapporté deux cas de contamination par injection percutanée de produits souillés.

4.2 Mode de diffusion

Ce sont les patients bacillifères qui sont à l'origine de la contamination , c'est-à-dire les patients dont l'examen direct de l'expectoration est positif, ce qui signifie qu'il existe au moins 10⁴ bacilles/ml de sécrétion . C'est le plus souvent le cas des tuberculoses excavées sachant qu'une caverne contient de l'ordre de 10⁷ à 10¹⁰ bacilles , alors qu'une lésion caséuse ne contient que 10² à 10³ bacilles (jusqu'à 10⁵). La contagion est favorisée par la toux et les éternuements qui permettent de disperser dans l'air les particules infectantes : une quinte de toux disperse 3 500 particules, un éternuement un million de particules. Seules les petites particules contenant un à trois bacilles sont susceptibles d'infecter un sujet indemne. Les plus grosses particules s'impactent au niveau du nasopharynx ou sont arrêtées dans l'arbre trachéobronchique et éliminées via le tapis mucociliaire. Les petites particules de quelques

micromètres vont arriver jusqu'aux alvéoles et pourront entraîner une infection en permettant aux bacilles de se multiplier dans les macrophages alvéolaires ; ceci implique à la fois une bactérie virulente et des macrophages insuffisamment actifs. On considère que 5 à 200 bacilles vivants doivent être inhalés pour que puisse se développer une lésion tuberculeuse [24] . Le temps durant lequel on partage le même volume d'air avec un sujet contagieux est important . Au contact d'une tuberculose bacillifère, 50 % des enfants de moins de 15 ans seront infectés , 20 % des sujets de plus de 15 ans. Le risque tombe à 5 % si le contact est seulement occasionnel . Après l'infection tuberculeuse, le risque de survenue d'une tuberculose maladie est de 5 à 10 % dans les 5 ans et de 5 % pour le reste de la vie chez le sujet immunocompétent, alors que pour un patient infecté par le VIH, le risque est de 8 %/an. Il est difficile de savoir si une tuberculose maladie est le fait d'une réactivation ou d'une réinfection ; celle-ci est néanmoins moins probable et la réinfection a moins de chances d'entraîner une tuberculose maladie que la primo-infection . Les bacilles peuvent être transportés par les macrophages alvéolaires vers le ganglion lymphatique et c'est probablement dans ce ganglion que se constitue la réponse immunitaire qui va se traduire par le virage des réactions tuberculiques 2 à 3 semaines après l'infection. La réaction d'hypersensibilité retardée et l'immunité cellulaire s'installent, alors que jusque-là, les défenses uniquement macrophagiques ne permettaient pas de limiter l'infection. Les macrophages infectés vont être tués par les cellules inflammatoires recrutées au sein de l'infection et ainsi être responsables d'une nécrose tissulaire qui correspond au caséum ; ce caséum est peu favorable au développement du BK. Dans ces lésions, le nombre de BK reste limité (10⁴ à 10⁵). Cette lésion primaire peut se situer n'importe où dans le poumon ce qui n'est pas le cas des lésions secondaires. Le plus souvent elle va guérir sans manifestation clinique mais elle peut donner lieu à une dissémination des bacilles qui peut se faire dans tout l'organisme et être responsable d'infections des séreuses, des méninges , de la plèvre , du péricarde , des os , des reins et des poumons. La quantité de bacilles dans ces lésions reste limitée à environ 10⁴ ou 10⁵ et même en cas de tuberculose disséminée sévère, la contagiosité est tout à fait réduite. [25 , 26 , 27]

4.3 Facteurs favorisant

Les risques de survenue d'une TB sont influencés par l'interaction complexe entre différents facteurs environnementaux, propres à l'hôte et au bacille [28]. La TB est considérée comme une « maladie sociale » car elle se propage préférentiellement chez les communautés défavorisées et les individus désocialisés ; elle touche essentiellement les populations urbaines , les personnes âgées , les sujets en situation de précarité et les migrants. La promiscuité, le nombre important de personnes vivant par pièce ainsi que la durée de l'exposition augmente le risque de développer une TB. Ainsi, le risque de contamination est plus important lorsque l'exposition a lieu au sein du cercle familial [29] . Les comorbidités éventuelles (infection VIH , diabète , insuffisance rénale, immunodépression , hémopathie, malnutrition. . .) majorent le risque de développer la maladie. La grande variabilité interindividuelle observée en pratique clinique est liée à une variabilité génétique du contrôle des défenses vis-à-vis de l'infection [30]. Concernant le bacille, la présence de cavernes sur la radiographie du contaminateur ou de fortes concentrations de bacilles à l'examen direct sont associés à un risque plus élevé d'infection mais aussi à un risque plus élevé d'évolution vers la maladie [31,32]. Néanmoins, l'absence de bacille à l'examen direct n'exclut ni la contamination, ni la progression vers la maladie [33] . De même, de nombreux travaux ont porté sur les variations phénotypiques et génotypiques entre souches et ont évalué la transmissibilité , la virulence et l'immunogénicité relatives des différentes lignées de bacilles tuberculeux ; ces études montrent que certaines souches bacillaires infectent un nombre plus grande personnes autour d'un cas contact [34,35]. À côté de ces facteurs classiques, d'autres facteurs ont été récemment incriminés. Ainsi, le tabagisme, en induisant une inflammation bronchique et en altérant les macrophages alvéolaires , semble être responsable d'une augmentation du risque d'infection tuberculeuse et de progression vers la maladie [36]. De même, l'utilisation de combustibles de la biomasse est associée à un risque accru de développer la maladie [37]. Récemment de nombreux travaux ont mis l'accent sur l'impact d'un déficit ou d'une carence en vitamine D sur le risque accru de développer une TB [38].

5. Statistique mondial

La tuberculose reste l'une des maladies transmissibles causant le plus de décès dans le monde, selon l'OMS [39] , l'épidémie de tuberculose est plus importante que précédemment estimée, reflétant les nouvelles données de surveillance et d'enquête provenant de l'Inde. Toutefois, le nombre de décès dus à la tuberculose ainsi que le taux d'incidence de la maladie continuent de baisser à l'échelle mondiale et en Inde.

En 2015, l'OMS estimait à 10,4 millions le nombre de nouveaux cas (incidents) de tuberculose dans le monde, dont 5,9 millions (56 %) chez les hommes, 3,5 millions (34 %) chez les femmes et 1 million (10 %) chez les enfants. Les personnes vivant avec le VIH représentaient 1,2 million (11 %) sur l'ensemble des nouveaux cas de tuberculose.

Six pays représentaient 60 % des nouveaux cas : l'Inde, l'Indonésie, la Chine, le Nigéria, le Pakistan et l'Afrique du Sud. Les progrès accomplis à l'échelle mondiale sont tributaires des avancées majeures en matière de prévention et de soins de la tuberculose dans ces pays. Dans le monde entier, le rythme de diminution de l'incidence de la tuberculose est resté à seulement 1,5 % de 2014 à 2015. Il faut accélérer la tendance pour parvenir à une réduction annuelle de 4 % à 5 % d'ici à 2020 et atteindre les premiers jalons de la Stratégie de l'OMS pour mettre fin à la tuberculose.

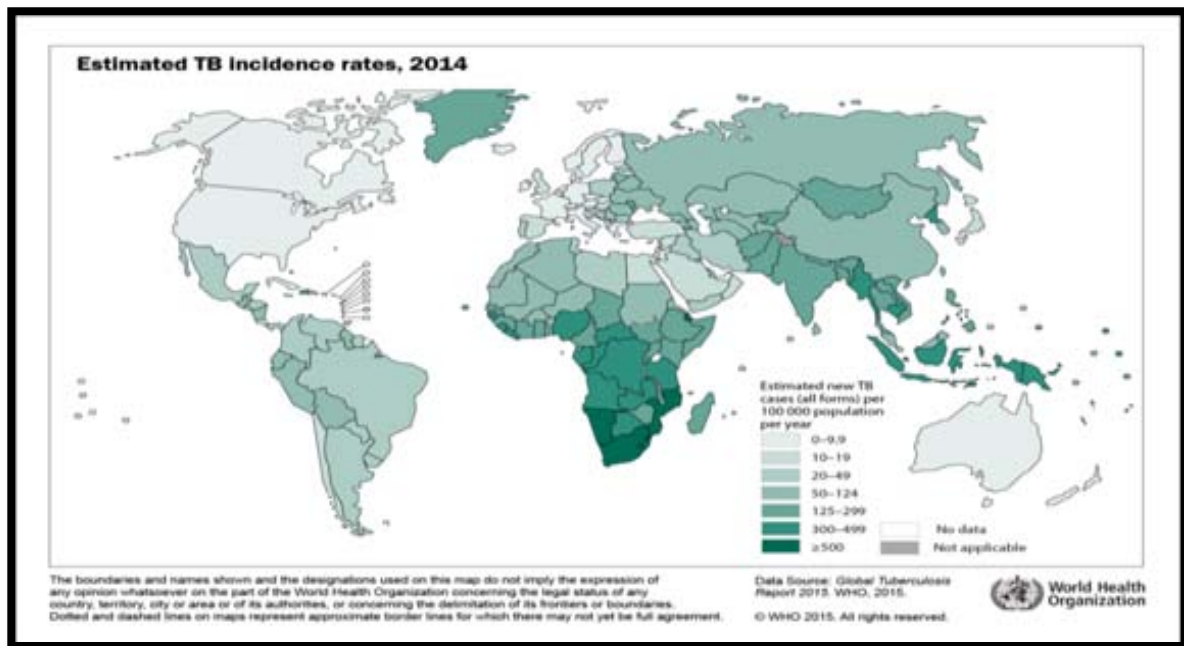


Figure 18 : Incidence estimée de la tuberculose en 2014, nombre de ca pour 100 000 personnes (OMS, 2015)

En 2015, l'OMS estime que 480 000 personnes ont développé une tuberculose multirésistante (MR) et 100 000 autres ont développé une tuberculose résistante à la rifampicine et ces dernières étaient également de nouvelles personnes remplissant les conditions pour un traitement de la tuberculose-MR. Le fardeau de la tuberculose-MR pèse en grande partie sur trois pays ; L'Inde, la Chine et la Fédération de Russie représentaient 45 % du total de 580 000 cas . En 2015, près de 9,5 % des cas de tuberculose-MR avaient en fait une tuberculose-UR [40]. Le nombre de XDR-TB augmente d'une façon considérable en fonction des années. En effet, en 2013, 100 pays avaient signalé au moins un cas de XDR-TB contre 58 pays en 2010 [40,41] . En 2008, 963 cas de XDR-TB ont été signalés au niveau de 33 pays contre 772 cas dans 28 pays en 2007 [41] .Néanmoins, l'OMS pense que beaucoup de cas de XDR-TB ne sont pas diagnostiqués en raison des modestes capacités des laboratoires pour tester la résistance aux médicaments [41] . La XDR-TB représente 9 % de toutes les souches de MDR-TB avec des taux élevés en Géorgie (20 %), Kazakhstan (22,7 %)et Lituanie (24,8 %) (35) . Chaque année, près d'un demi-million de personnes contractent une MDR-TB et 150 000 personnes décèdent [42,41] .

Actuellement dans le monde, seulement 52% des cas de tuberculose-MR et 28% des cas de tuberculose-UR sont traités avec succès [40] Le taux de guérison bas peut être expliqué par les faiblesses du système de santé, le manque de schémas thérapeutiques efficaces et le manque de financement .

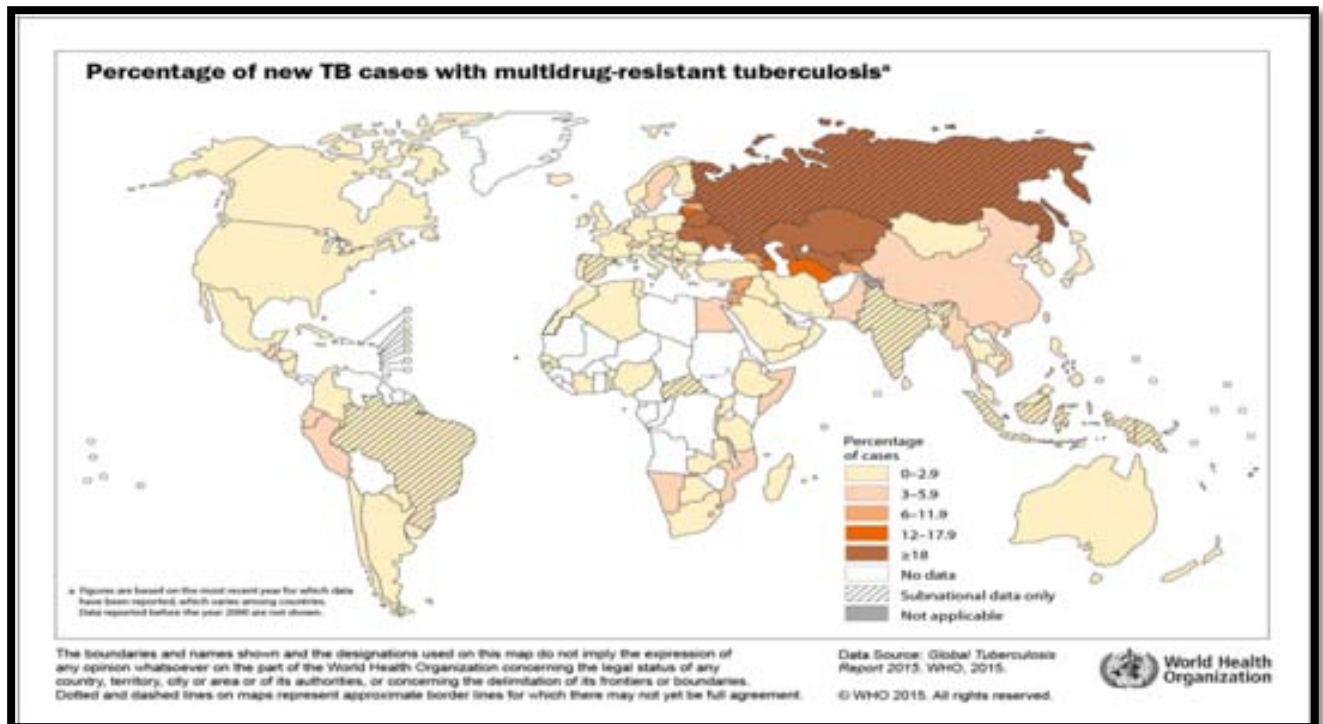


Figure 19 : Pourcentage de nouveaux cas de tuberculose à bacilles multirésistants (%) en 2014 (OMS, 2015).

Selon les estimations, 1,4 million de décès en 2015 étaient dus à la tuberculose et 0,4 million de décès supplémentaires concernaient les cas de tuberculose chez les personnes vivant avec le VIH. Bien que le nombre de décès par tuberculose ait baissé de 22 % entre 2000 et 2015, la tuberculose demeure l'une des 10 principales causes de décès dans le monde en 2015.

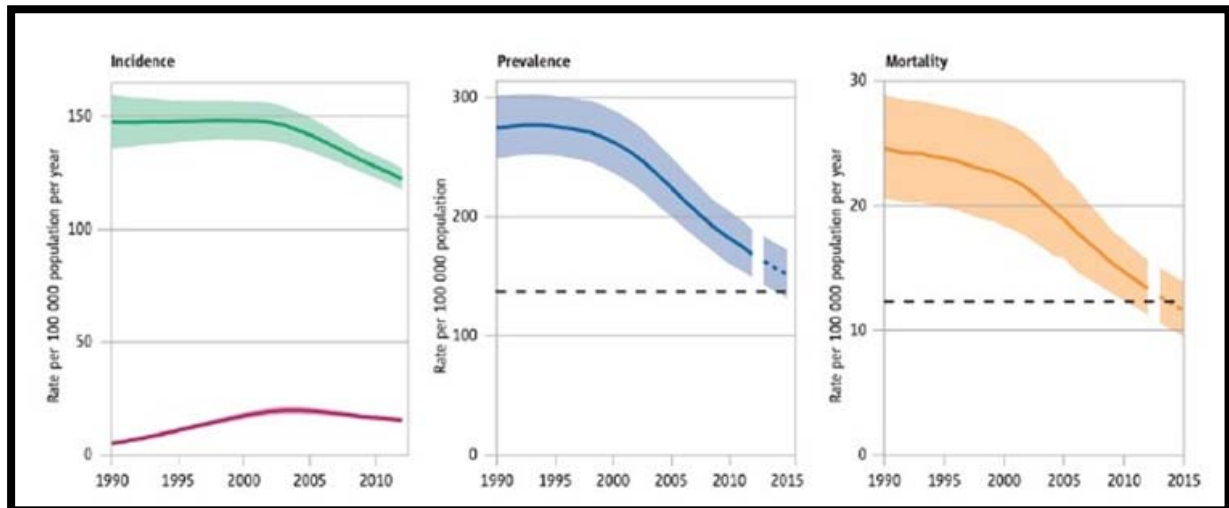


Figure 20 : Evaluation par l'OMS de l'incidence , la prévalence et la mortalité de la tuberculose entre 1990 et 2013, auprès de la population mondiale. (OMS 2015)

6. Statistique nationale

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 toujours élevée. Selon les estimations de l'OMS pour l'année 2015 [43] , le nombre annuel de cas incidents de la tuberculose au Maroc était d'environ 30636.

Le ministère de la Santé dans un communiqué a indiqué Un total de 31.542 cas de tuberculose, toutes formes confondues, ont été enregistrés au Maroc durant l'année 2016. Alors qu' en 2015, le total était de 30.636 cas de tuberculose, toutes formes confondues (28.955 nouveaux cas et 1.681 cas de rechutes), a été notifié, soit une incidence de 89 cas pour 100 000 habitants Le nombre de décès par TB était de 656 cas [44].

En 2015, 160 patients ont développé une TB-Multirésistante [44] . L'OMS estime une prévalence de cas de TB avec TB-MR/RR 1% (0.3-1.7) Nouveaux cas 8.7% (4.8-13) Cas déjà traités [43].

Entre 2000 et 2015, l'incidence globale a régressé de 17% et celle de la forme pulmonaire à frottis positif a régressé de 20% .

La proportion de la forme extra-pulmonaire (TEP) était la plus élevée en 2016 selon le ministère à l'occasion de la journée mondiale de la tuberculose , avec 53% des cas contre 47% des cas de tuberculose pulmonaire . Ainsi qu'en 2015 , la proportion de la forme extra-pulmonaire (TEP) était aussi la plus élevée avec 52 % (dont 3% étaient des cas de primo-infection tuberculose) contre 48 % des tuberculoses pulmonaires [44] .

Les cas de TB confirmés bactériologiquement en 2015 ont représenté 44% des cas notifiés, contre 56% des cas diagnostiqués selon des critères cliniques .

En 2016 selon le ministère la tuberculose est plus fréquente chez l'homme que chez la femme. Les personnes âgées entre 15 et 45 sont les plus touchées, soit 63%.

Selon les données du ministère en 2016 , 87 % des cas ont été rapportés par 6 régions, correspondant à 78% de la population nationale. Il s'agit des régions de Casablanca-Settat, Rabat-Salé-Kenitra, Tanger-Tétouan-Al Hoceima, Fès-Meknès, Marrakech-Safi, Souss-Massa. La maladie s'est concentré en milieu urbain et a affecté plus particulièrement les quartiers défavorisés des grandes villes.

L'analyse des résultats du traitement de la cohorte des nouveaux cas enregistrés en 2014, a révélé les taux suivants:

- ❖ Un taux de succès thérapeutique de 86%
- ❖ Un taux de perdus de vue de 6 %
- ❖ Un taux d'échec thérapeutique de 1%
- ❖ Un taux de létalité de 2%

7. Physiopathologie

Une fois inhalés, les bacilles tuberculeux sont déposés au niveau des espaces alvéolaires distaux, le plus souvent au niveau des zones pulmonaires supérieures. Il s'agit du foyer primaire ou chancre d'inoculation. Les BK sont alors phagocytés par les macrophages pulmonaires. Il s'ensuit une réponse inflammatoire locale cellulaire lymphocytaire à prédominance Th1 et où les CD4 jouent un rôle effecteur central et dont le stade ultime est la formation d'un granulome inflammatoire . De nombreuses cytokines sont libérées dont l'interféron gamma ($INF\gamma$), l'interleukine 2 et le facteur de nécrose des tumeurs ($TNF\alpha$) favorisant ainsi le recrutement de cellules mononuclées circulantes. Les cellules dendritiques phagocytaires, chargées en peptides antigéniques, migrent jusqu'aux relais ganglionnaires pour présenter les antigènes aux lymphocytes T CD4 qui retournent au poumon pour orchestrer la réponse inflammatoire . Par ailleurs, les lymphocytes CD8 participent à cette réaction inflammatoire en lysant les macrophages infectés et en produisant l' $INF\gamma$. Cette réaction immunitaire se traduit par la formation d'un granulome avec une réaction ganglionnaire satellite conduisant au complexe gangliopulmonaire de la primo infection [45,46] . Au cours des 2 à 3 semaines qui suivent l'infection, se développe une réaction d'hypersensibilité retardée au BK qui se traduit par le virage des réactions tuberculiques [47] .

Dans 90 % des cas, la réponse immunitaire de l'organisme prévient la prolifération des mycobactéries et contrôle l'infection en 3 à 9 semaines. Il s'agit d'une infection tuberculeuse latente [45-48]. Toutefois, des BK peuvent persister à l'état quiescent dans les macrophages sous un mode répliatif lent ou non . Une tuberculose peut survenir lors d'une baisse de l'immunité cellulaire ou lors d'une réinfection [42]. Ce risque est majoré aux âges extrêmes de la vie notamment chez les enfants de moins de 5 ans et les sujets de plus de 75 ans [50,51] . D'autres situations favorisent également le passage à la tuberculose telle la malnutrition, la précarité, l'insuffisance rénale, le diabète mais aussi l'infection par le virus d'immunodéficience humaine (VIH) où la progression atteint les 10 % dans les pays à forte endémie tuberculeuse

[52,53] . L'évolution vers la tuberculose maladie survient dans 50 à 80 % des cas dans les deux années qui suivent l'infection initiale. Ce risque décroît progressivement par la suite mais semble s'étendre sur toute la vie [54–49].

8. Aspect clinique

8.1 La primo-infection tuberculeuse

La primo-infection tuberculeuse (PIT) traduit le premier contact de l'organisme avec le BK et c'est de loin la forme la plus fréquente puisqu'un tiers de la population mondiale est infecté par le BK . Dans la grande majorité des cas, elle est asymptomatique et se traduit par un simple virage des réactions cutanées tuberculiques. La PIT est dite alors latente [55,56] . Dans environ 10 % des cas, la PIT est symptomatique ou patente, associée à des manifestations cliniques et/ou radiologiques ; elle peut se manifester, par une toux, une asthénie, un fléchissement de l'état général avec une fièvre modérée . L'évolution fébrile peut parfois simuler une fièvre typhoïde. Un érythème noueux ou une kératoconjonctivite phlycténulaire peuvent être retrouvés . Des anomalies biologiques peuvent être présentes avec une accélération de la vitesse de sédimentation , une augmentation du taux de la protéine C-réactive ou une leucocytose minime . La radiographie du thorax peut mettre en évidence un chancre d'inoculation associé à des adénopathies hilaires unilatérales. Ces lésions se traduisent ultérieurement par une « cicatrice radiologique » , souvent à localisation apicale , qu'on peut suspecter par son caractère calcifié . En raison de la pauvreté et de l'absence de spécificité des signes cliniques , le diagnostic de PIT est basé sur la mise en évidence de la réponse immunitaire spécifique [57]. Deux types de tests d'immunodiagnostic sont disponibles : le test cutané tuberculique , ou intradermoréaction(IDR) et les tests sériques de détection de l'INF γ , connus sous l'acronyme IGRA pour *Interféron Gamma Release Assay*.

8.2 Tuberculose active : pulmonaire et extra-pulmonaire

a) Localisations pulmonaires

Les localisations pulmonaires constituent la grande majorité des cas de tuberculose maladie et représentent la majorité des formes contagieuses . Les signes cliniques sont non spécifiques. L'altération de l'état général est marquée par un amaigrissement parfois important, une asthénie ,

Une fièvre et des sueurs nocturnes. Les signes cliniques respiratoires sont dominés par une toux plus ou moins productive et dans moins de 10 % des cas , on note des épisodes d'hémoptysies . Sur le plan radiologique, les lésions les plus typiques sont des nodules, des cavernes contenant une très grande quantité de bacilles de Koch (BK) et des infiltrats siégeant préférentiellement au niveau du segment postérieur du lobe supérieur ou du segment apical du lobe inférieur [58]. L'atteinte pleurale réalise le plus souvent une pleurésie exsudative, contenant de très rares BK avec une plèvre tapissée de follicules tuberculeux , permettant le plus souvent un diagnostic anatomopathologique par une biopsie pleurale. La pneumonie aiguë tuberculeuse peut initialement faire suspecter une pneumonie à pyogènes. Il existe parfois également des adénopathies hilaires , médiastinales associées aux formes parenchymateuses .

b) Localisations extrapulmonaires

Les formes extrapulmonaires sont plus souvent retrouvées chez des patients ayant une immunodépression sévère (patient infecté par le VIH, sous traitement immunosuppresseur. . .) , les personnes âgées ou encore les personnes d'origine étrangère [59].

Les localisations les plus fréquentes sont les atteintes ganglionnaires , ostéo-articulaires (dont les tuberculoses rachidiennes ou spondylodiscites , appelées Mal de Pott), péricardiques , méningées, génito-urinaires , péritonéales .

Les miliaires tuberculeuses associent d'importants signes généraux et un syndrome interstitiel micronodulaire diffus sur la radiographie de thorax. La méningite tuberculeuse résulte

de l'effraction de l'espace méninge a partir d'un foyer cortical cérébral . Ces formes graves de tuberculose (miliaire et méningite) prédominaient auparavant chez l'enfant.

8.3 Cas particuliers des patients immunodéprimés VIH

Le tableau clinique peut être atypique, surtout pour les patients séropositifs pour le VIH avec moins de 200 CD4/mm³. A ce stade d'immunodépression , les formes radiologiques avec des cavernes, des infiltrats supérieurs sont rares et le diagnostic peut être plus difficile.

De plus , en cas de coinfection par le VIH , la non spécificité des signes cliniques et radiologiques de tuberculose pouvant être également rencontrés dans d'autres pathologies pulmonaires ou extrapulmonaires au cours du VIH/sida peut également retarder le diagnostic [60].

Enfin, chez les personnes séropositives pour le VIH , l'examen microscopique de l'expectoration est moins souvent positif que chez les patients non infectés par le VIH , ce qui peut encore compliquer le diagnostic [61,62].

Les patients séropositifs sont plus a risque de présenter des tuberculoses maladies avec des formes parfois « explosives » liées au syndrome de reconstitution immunitaire (IRIS).

L'IRIS correspond à l'ensemble des manifestations inflammatoires pathologiques attribuées à la reconstitution de la réponse immunitaire vis-à-vis d'agents infectieux ou non infectieux après correction d'un déficit immunitaire. La tuberculose est l'affection la plus souvent associée au syndrome de reconstitution immunitaire chez les patients infectés par le VIH. Les IRIS peuvent se présenter sous deux formes ; la première est la réaction paradoxale qui correspond a une aggravation de l'état clinique en relation avec la tuberculose au décours de la mise sous antirétroviraux (ARV), chez un patient s'améliorant initialement sous traitement antituberculeux , La seconde forme appelée *unmasking* correspond au démasquage d'une tuberculose au décours de la mise sous ARV, avec une présentation atypique et très inflammatoire , chez des patients ne présentant pas de symptôme de tuberculose avant le début

des antirétroviraux . Cette forme procède néanmoins le plus souvent du passage d'une tuberculose infraclinique à une tuberculose très active suite a la restauration immunitaire. Ces formes de tuberculose appelées *unmasking tuberculose* ont été décrites essentiellement dans les pays en développement [63] mais aussi en Europe [64,65] . Leur caractère souvent explosif et difficile a prendre en charge incite à un dépistage très actif de la tuberculose avant de débiter les ARV. Ce dépistage est d'ailleurs préconise par les recommandations d'experts qui rappellent la nécessité de rechercher systématiquement et de traiter précocement les infections opportunistes pauci-symptomatiques avant l'introduction des antirétroviraux afin de limiter le risque d'IRIS [66].

9. Diagnostic

9.1 Circonstance de diagnostic

- Signes extra respiratoires
- Détresse respiratoire
- Découverte systématique
- À l'occasion d'un dépistage actif

9.2 Diagnostic clinique

a) Contexte épidémiologique évocateur

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

b) Signes généraux

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

L'asthénie est fréquente et peut persister tout au long du traitement.

L'amaigrissement peut , dans les formes graves, dépasser 10 kg. La reconstruction de la courbe de poids aide à déterminer le début de la maladie.

La fièvre, généralement peu élevée, a rarement été vérifiée par la mesure de la température ; elle peut prendre un aspect oscillant avec frissons dans les formes sévères.

Les sueurs nocturnes sont très fréquentes et doivent être systématiquement recherchées.

L'ensemble de ces signes doit faire évoquer le diagnostic, en particulier devant une persistance de plus de trois semaines , chez une personne en provenance d'un pays de forte prévalence ou dans une situation épidémiologique particulière , le diagnostic est souvent évoqué devant un tel tableau . En revanche, il est souvent négligé chez un sujet considéré comme non à risque, en dehors d'une situation épidémiologique particulière.

c) Signes cliniques respiratoires

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

tuberculoses pulmonaires, contrastant en cela avec l'importance des signes cliniques et radiologiques.

d) Signes cliniques extra-respiratoires

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

- signes urinaires d'une tuberculose rénale
- atteinte épидidymaire d'une tuberculose génitale masculine
- stérilité d'une tuberculose génitale féminine ;
- adénopathie clinique fluctuante et parfois même douloureuse, d'une tuberculose ganglionnaire ;
- douleur lombaire ou articulaire d'une tuberculose osseuse.
- dyspnée et douleur thoracique d'une péricardite tuberculeuse.
- troubles de la conscience et hyponatrémie d'une tuberculose méningée ;
- ictère d'une tuberculose hépatique miliaire ou par compression des voies biliaires.
- Signes cutanées d'une tuberculose dermatologique.

e) L'anamnèse

- Caractère subaigu..... parfois brutal
- Notion de contagé
- Notion de traitement anti-bacillaire antérieur
- Facteurs de risque
- Notion de vaccination

f) L'examen physique

Normal, râles bronchiques, ou sous crépitants ... Aucun caractère spécifique .

Recherche de localisations extra pulmonaires (ganglions périphériques , plèvre...

9.3 Diagnostic imagrique

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

a) Radiographie thoracique

C'est un examen incontournable qui permet de suspecter le diagnostic et de suivre le patient. La radiographie du thorax montre souvent des anomalies même en l'absence de signes cliniques [67]. Les lésions touchent avec une grande prédilection le segment apicodorsal du lobe supérieur dans 80 à 90 % des cas, le segment apical du lobe inférieur et le segment antérieur du lobe supérieur [67,68,69]. Les aspects les plus typiques sont les opacités nodulaires, parfois, confluentes, les infiltrats et les cavernes [70–71]. Dans de larges séries de tuberculose chez l'adulte, 70 à 87 % des patients ont des infiltrats au niveau des lobes supérieurs, 19 à 40 % ont des cavitations avec un niveau hydroaérique dans 20 % des cas [67,68,69]. Un aspect atypique est rencontré dans 13 à 30 % des cas [72,73]. Une atteinte pleurale, une atteinte des bases, des nodules solitaires ou une forme pneumonique peuvent être également retrouvés. La localisation ganglionnaire médiastinale témoigne souvent d'une contamination semi-récente ou récente. Des lésions calcifiées des lobes supérieurs peuvent être retrouvées. L'analyse des éléments cliniques et radiologiques et la comparaison avec les clichés anciens sont parfois nécessaires pour établir le caractère ancien ou évolutif des lésions. Le cliché peut être normal, notamment chez les sujets VIH positifs. Dans une série canadienne de 518 patients ayant une tuberculose pulmonaire avec une culture positive, 25 patients ont une radiographie thoracique normale [74].

b) Le scanner thoracique

Permet une meilleure analyse des lésions. Il est indiqué en présence d'images suspectes ou minimales chez un patient à risque, dont la clinique est fortement évocatrice de tuberculose sans preuves bactériologiques, ou en présence d'adénopathies médiastinales, de miliaire tuberculeuse (MT) ou lors des complications.

c) L'imagerie extra-thoracique

L'imagerie extra-thoracique est le plus souvent indispensable au diagnostic des tuberculoses extrapulmonaires .

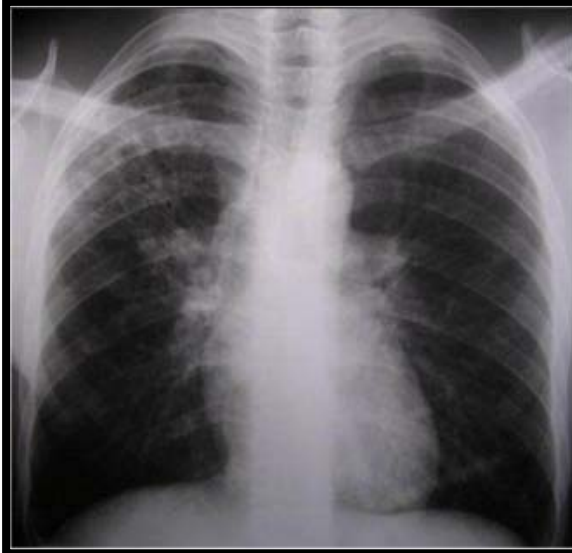


Figure 21(a) :Infiltrat du lobe sup droit
[75]

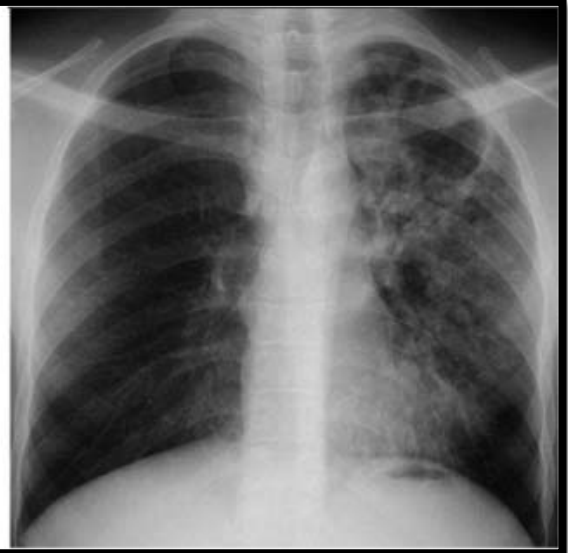


Figure 21 (b) : Lésion cavitaire
(caverne) et opacités nodulaires du
CPG [75]

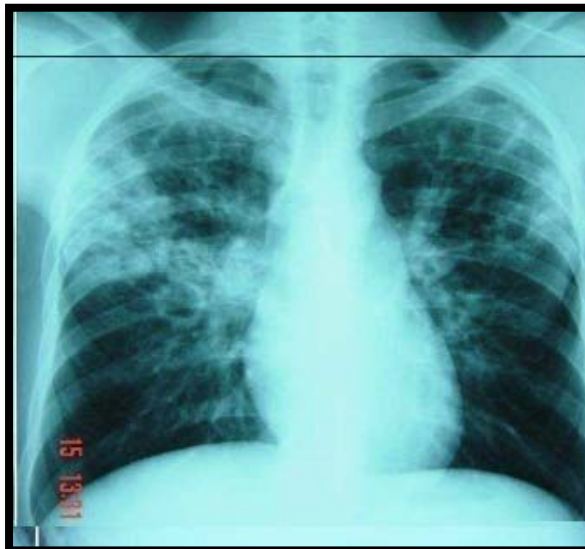


Figure 21 (c) : Opacités nodulaires et
excavations bilatérales des deux lobes
supérieurs [75]



Figure 21 (d) : Opacités nodulaires
bilatérales et caverne axillaire gauche
[75]

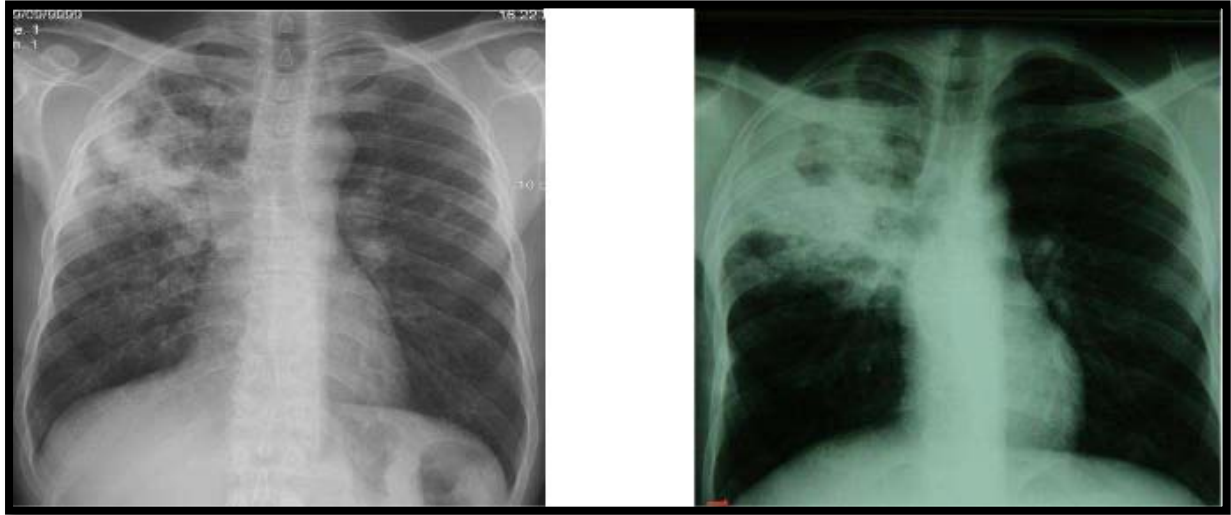


Figure 21 (e) : Opacités nodulaires et cavitaires du LSD et infiltrat axillaire gauche [75]

Figure 21 (f) : Pneumonie tuberculose [75]

9.4 Diagnostic biologique non spécifique

La numération formule sanguine et les analyses biochimiques de routine sont souvent normales au cours de la tuberculose pulmonaire. La protéine C-réactive est élevée chez 85 % des patients [76] . 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 [77] . Une hypoalbuminémie avec hypergamma globulinémie peuvent 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 coinfection [78].

L'IDR à la tuberculine ne permet pas de confirmer le diagnostic de la tuberculose maladie. Le plus souvent elle est positive . Elle peut être négative notamment dans les formes graves et en cas d'immunodépression . L'IDR mise au point par Charles Mantoux en 1907 est le plus vieux test utilisé pour le diagnostic de la tuberculose latente ; ce test consiste à injecter un extrait antigénique appelé, dérivé protéique purifié (DPP), obtenu à partir des souches de

Mycobacterium tuberculosis qui présente plus de 200 antigènes communs avec le *Mycobacterium bovis*, le vaccin bilié de Calmette et Guérin (BCG) et certaines myco-bactéries environnementales [79,80] ; cet extrait est injecté à la face antérieure de l'avant-bras, induit une hypersensibilité à médiation cellulaire retardée de 48 à 72 heures ; le résultat est interprété selon le diamètre d'induration ; la détermination du seuil de positivité de l'IDR et son interprétation doit tenir compte du statut vaccinal du patient mais aussi de plusieurs autres facteurs , notamment le contexte épidémiologique de la population concernée et la promiscuité . En effet, dans les zones à forte endémicité de tuberculose , la majorité des IDR positives sont le témoin d'une authentique infection tuberculeuse à *Mycobacterium tuberculosis* ; dans ce cas, le seuil de positivité est estimé à 5 mm. Au contraire, lorsque la prévalence de la tuberculose est faible, le risque qu'une IDR positive soit le reflet d'un contact avec *M. tuberculosis* est plus faible avec un seuil de positivité plus élevé [81] .

Quoique simple, sensible et peu coûteux, ce test présente certaines insuffisances. L'IDR peut être faussement positive en cas de vaccination par le BCG, d'infections à mycobactéries atypiques ou suite à un effet « booster » induit par la répétitivité de l'IDR chez un sujet antérieurement « négatif » [82,83] . L'IDR peut être faussement négative au cours d'authentiques infections tuberculeuses . Ceci peut être attribué à une anergie tuberculique en cas de virose, d'une hémopathie maligne, d'un traitement immunosuppresseur, d'une infection par le VIH, ainsi qu'aux âges extrêmes ou en cas de malnutrition. Des faux-négatifs peuvent aussi se voir en phase pré-allergique ou à l'occasion d'une erreur technique de réalisation de l'IDR . Ces dernières années, deux nouveaux tests diagnostiques de l'infection tuberculeuse ont été introduits ; ces tests mesurent à partir d'un prélèvement sanguin soit la production d'interféron gamma (INF γ) dans le sang total , soit le nombre de lymphocytes T producteurs d'INF γ après stimulation in vitro par des protéines spécifiques de *Mycobacterium tuberculosis* [84] .

a) **Tests de quantification de l'interféron gamma (INF gamma)**

Ces tests détectent la libération d'IFN-gamma des lymphocytes T sanguins après incubation avec un mélange de trois peptides synthétiques représentant des protéines de *M. tuberculosis* : ESAT-6 (*early secretory antigenic target-6*), CFP-10 (*culture filtrate protein-10*) et le TB7.7. Ces protéines ne sont pas présentes dans la souche vaccinale du BCG ni dans la majorité des mycobactéries non tuberculeuses, à l'exception de *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulga* et *Mycobacterium marinum* qui possèdent une similitude génique codant pour le ESAT-6 et le CFP-10 détectés par les IGRAs [85,86]. Ces particularités géniques ont fait de ces tests, des examens de bonne spécificité s'affranchissant des possibles réactions croisées chez les patients vaccinés et d'un grand nombre d'infections à mycobactéries [85-87]. Deux tests utilisant ces techniques de détection de l'INF γ sont validés et ont une licence de commercialisation dans de nombreux pays. Ce sont : le QuantiFERON-Tb Gold In-Tube (QFT-GiT) et le T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Oxford, Abingdon, Royaume-Uni). Le premier test utilise une méthode Elisa pour quantifier le taux d'IFN γ libéré par les lymphocytes T suite à une stimulation antigénique par le ESAT-6, CFP-10 et TB7.7. Le second test T-SPOT.TB utilise la méthode Elispot pour quantifier les cellules libérant l'IFN γ après stimulation par les antigènes mycobactériens ESAT6 et CFP10 ; cette technique serait plus adaptée aux sujets VIH puisqu'elle comporte un comptage direct des cellules productrices d'INF γ et utilise un nombre fixe de cellules placées dans chaque puits de réaction, indépendamment du nombre de CD4/ml [85-88]. Ces 2 tests comportent un témoin positif et un témoin négatif. Ils ne sont pas contributifs dans 15 % des cas [89,88]. Quoique leur interprétation soit moins subjective que l'IDR et se fait après un délai de 24 à 48 h, ces tests ne sont pas d'utilisation courante dans tous les pays et les recommandations concernant leurs utilisations ne sont pas univoques [89,90,91]. Aux États-Unis, le CDC recommande l'utilisation des IGRAs dans toutes les situations où l'IDR est indiquée, les 2 tests peuvent être réalisés de manière successive « two-step testing » en cas de doute diagnostic ou pour confirmer un premier résultat positif [92]. Au Royaume-Uni, le Health Protection Agency (HPA) en 2008 recommande la pratique de l'IDR en première intention et

réserve l'utilisation des IGRAs en cas de doute sur la négativité de l'IDR [93,94]. En France, il n'y a pas de recommandations précises. Toutefois, chez les sujets de plus de 5 ans, compte tenu d'une couverture vaccinale importante par le BCG, les IGRAs pourraient être privilégiés [95]. Chez les enfants de moins de 5 ans, il semble que le test intradermique soit plus adapté par rapport aux tests de quantification de l'INF γ , probablement en raison d'une immaturité immunitaire [96,97].

b) Histologie

L'étude histologique permet de mettre en évidence un granulome épithélioïde et géantofolliculaire avec nécrose caséuse [98]. Contrairement à l'examen bactériologique, l'histologie ne confirme pas le diagnostic de tuberculose du fait de l'absence de spécificité des lésions. Cet examen est d'un apport important dans les formes non confirmées bactériologiquement et associées à des localisations extrapulmonaires. Les prélèvements doivent être adressés parallèlement en bactériologie afin d'obtenir la confirmation de la maladie. Un test de biologie moléculaire par amplification d'acides nucléiques peut être envisagé. Dans 15 à 20 % des cas, la tuberculose reste non confirmée et les patients sont traités sur des éléments de présomption radio-cliniques et selon le contexte épidémiologique [99,100]. Les tuberculoses pulmonaires à frottis négatif et les formes extrapulmonaires sont en augmentation dans certains pays où sévit l'épidémie du VIH [101]. Des algorithmes et des recommandations ont été proposés basés sur des opinions consensuelles et avis d'experts, mais sans base factuelle solide [101].

9.5 Diagnostic biologique spécifique

Seule l'identification bactériologique de *M. tuberculosis* ou des autres bacilles de la tuberculose plus rarement rencontrés, principalement *M. bovis* et *M. africanum*, permet de confirmer le diagnostic de tuberculose car les éléments cliniques, radiologiques et histologiques ne sont que présomptifs.

Le genre *Mycobacterium* représente plus de 150 espèces largement présentes dans l'environnement dont plusieurs sont également pathogènes pour l'homme mais non transmissibles de patient à patient. L'identification précise de l'espèce est donc essentielle .

a) **Prélèvement**

- **Formes pulmonaires**

Dans les formes pulmonaires , on privilégie les produits de l'expectoration spontanée. En effet, quand la toux est productive, l'expectoration est préférable au tubage gastrique. Les prélèvements d'aspect salivaire ne conviennent pas . Les prélèvements doivent être faits dans de bonnes conditions d'hygiène (récipient large, à fermeture hermétique), afin d'assurer la sécurité du personnel (port de masques de protection respiratoire). Comme les émissions de bacilles de la tuberculose sont intermittentes, les examens bactériologiques doivent être répétés. Le nombre optimal de prélèvements est de 3 (1 par jour, 3 jours consécutifs), à réaliser avant la mise en route du traitement antituberculeux . S'il est difficile d'obtenir une expectoration ou si la recherche de bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) dans l'expectoration est négative, malgré un contexte clinique évocateur, deux autres méthodes de prélèvement sont proposées:

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

risque vital. Il est contre-indiqué en cas d'images évocatrices de tuberculose à la radiographie pulmonaire en raison des risques de contagion pour l'opérateur et les difficultés pour décontaminer le fibroscope.

- Formes extra-pulmonaire

En cas de suspicion de tuberculose rénale, les urines sont prélevées trois jours de suite, si possible après restriction hydrique. Pour le diagnostic de méningite tuberculeuse, le liquide céphalorachidien (LCR) est prélevé par ponction lombaire. Afin d'optimiser la découverte de bacilles de la tuberculose à l'examen microscopique et en culture, il est souhaitable de prélever au moins 2ml de LCR et de signaler au laboratoire la suspicion de tuberculose. En cas d'adénopathies, l'exérèse est préférable à la ponction-aspiration.

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

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

- un premier fragment est placé dans un tube sec, destiné à la bactériologie. Si le fragment est très petit et si l'analyse ne peut être effectuée rapidement, on ajoute quelques gouttes d'eau distillée stérile (et non de sérum salé isotonique) pour l'examen bactériologique. La culture positive apportera la preuve formelle du diagnostic de tuberculose;
- un second fragment est destiné à l'examen anatomopathologique ; il peut être placé dans le formol, mais pas dans le liquide de Bouin qui altère l'acido-alcool-résistance. La

présence de granulomes épithélio-gigantocellulaires est un argument présomptif dans un contexte clinique évocateur. La nécrose caséuse constitue la lésion spécifique. Il faut éviter la contamination des prélèvements par l'eau de distribution du réseau ou d'autres liquides qui peuvent contenir des mycobactéries de l'environnement. Le rinçage de bouche avant expectoration est déconseillé et l'usage de récipients rincés à l'eau du robinet est proscrit. N'ajouter ni conservateur ni agents fixateurs aux prélèvements. Les prélèvements sont rapidement transportés au laboratoire pour éviter la multiplication d'autres bactéries ou champignons. Les prélèvements sont conservés au froid (+4 °C) en attendant leur manipulation.

b) Diagnostic direct

Pour mettre en évidence les bacilles de la tuberculose à l'examen microscopique, on utilise la propriété d'acido-alcoolo-résistance des mycobactéries, après les avoir colorés à la fuschine (coloration de Ziehl-Neelsen) ou avec un fluorochrome (coloration à l'auramine).

L'examen microscopique met donc en évidence des bacilles acido-alcoolo-résistants (baar) sans faire la distinction entre bacilles de la tuberculose et mycobactéries atypiques . L'expérience montre toutefois que, dans la majorité des cas et en particulier dans les pays en voie de développement, ces baar sont des bacilles de la tuberculose. L'examen microscopique est peu sensible. Il n'est positif que lorsque la concentration bacillaire est au moins égale à 10³⁻⁴/mL de produit soumis à l'examen. Malgré ces faiblesses , l'examen microscopique est essentiel car il permet de faire, en quelques heures seulement, un diagnostic très probable des tuberculoses les plus contagieuses et donc de prendre très rapidement les mesures de prévention adéquates pour l'entourage. Avec quelques heures de plus, la certitude du diagnostic peut être obtenue si l'on dispose des outils génétiques d'identification adaptés (voir plus loin). Dans les pays en voie de développement, où culture et méthodes moléculaires sont difficiles à implanter, il est fondamental ; la sensibilité, qui dans ce contexte est cruciale, peut être sensiblement améliorée en répétant l'examen deux ou trois fois [102], en veillant à la bonne

qualité du prélèvement et à celle de l'observation microscopique. Les crachats doivent être prélevés le matin, à raison de 5mL minimum [103] et être non salivaires. La technique de coloration fluorescente doit être préférée à la technique de Ziehl-Neelsen. Aujourd'hui, elle peut facilement être implantée grâce à la nouvelle technologie *light-emitting diodes* (LED) dans laquelle des diodes, qui dispensent de la chambre noire, ne produisent pas de rayonnement UV et dont la durée de vie est très longue [104], remplacent avantageusement les lampes à vapeur de mercure. Le microscopiste doit être bien entraîné.

L'examen microscopique est peu sensible, mais il reste essentiel car il permet de porter en quelques heures un diagnostic très probable des tuberculoses les plus contagieuses et donc de prendre très rapidement les mesures de prévention adéquates pour l'entourage. On peut augmenter la sensibilité en répétant l'examen deux ou trois fois, en veillant à la bonne qualité du prélèvement et de l'observation microscopique.

c) **Diagnostic indirect**

Lorsque l'examen microscopique est négatif, le clinicien est amené à attendre les résultats de la culture pour confirmer le diagnostic. 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 extrapulmonaires 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 milieu solide de Lowenstein-Jensen, les colonies sont détectées en moyenne en trois à quatre semaines, en deux si le prélèvement est très riche en bacilles (examen microscopique positif) mais parfois en six ou plus si le prélèvement est paucibacillaire (examen microscopique négatif). Avec les milieux de culture liquides, dont beaucoup de laboratoires disposent aujourd'hui (milieu MGIT utilisé manuellement ou au sein de l'automate Bactec 960, Becton Dickinson, milieu Bact/Alert MP de l'automate Bact

Alert3D BioMérieux, Versa TREK system, milieu MB Redox), la détection de la multiplication bactérienne, basée sur divers principes physicochimiques (consommation d'oxygène qui fait apparaître une fluorescence à partir d'un composé fixé au fond du tube, métabolisme bactérien qui produit une acidification du milieu avec virage d'un indicateur coloré ou une modification de pression. . .) se fait une semaine plus tôt en moyenne.

La culture permet de faire l'identification des mycobactéries isolées et de procéder à la mesure de la sensibilité aux antibiotiques.

d) L'identification des cultures de bacilles de la Tuberculose

- Techniques moléculaires

L'hybridation avec des sondes complémentaires des séquences génomiques spécifiques constitue aujourd'hui le moyen le plus utilisé pour identifier les mycobactéries obtenues en culture [105]. Elle remplace avantageusement l'étude des caractères cultureux et biochimiques qui, pour être complète, demandait souvent plusieurs semaines.

Les sondes Accuprobe®, complémentaires d'un fragment spécifique d'ARN, et les bandelettes Genotype Mycobacterium® (HainScience) ou INNO LiPA Mycobacteria® (Innogenetics) dont les cibles respectives sont l'ARN 23S ou l'espace 16S-23S de l'ARN, permettent d'identifier *Mycobacterium tuberculosis* complex en culture, dans un délai de quelques heures seulement, avec une excellente sensibilité ($\approx 100\%$) et une excellente spécificité ($\approx 95\%$). Leurs performances, lorsqu'on les applique directement au prélèvement pour l'identification des bacilles observés à l'examen microscopique sont moins bonnes (dépendantes du nombre de bacilles observés), voire insuffisantes avec les sondes Accuprobe qui fonctionnent sans amplification de la cible. Ces bandelettes assurent, avec l'identification de *M. tuberculosis* complex, celle des espèces de mycobactéries atypiques les plus fréquemment rencontrées (35 avec les bandelettes Genotype Mycobacterium). En revanche, elles ne permettent pas d'identifier les espèces au sein de *M. tuberculosis* complex. Pour ce

faire , on dispose d'une autre bandelette, la bandelette Genotype MTBC® (Hain Science) basée sur une PCR multiplex dont les cibles sont le gène de l'ARN 23S (pour *M. tuberculosis complex*), la région RD1 (pour *M. bovis*) et le gène *gyrB* (pour *M. africanum*, *M. tuberculosis* et *M. canetti*).

- **Techniques antigéniques**

La détection par immuno-chromatographie de la protéine MPT64 sécrétée spécifiquement par les mycobactéries du complexe *M. tuberculosis* (à l'exclusion de quelques souches de *M. bovis* BCG dont la souche Pasteur) dans le milieu de culture pendant la phase de croissance, est aujourd'hui à la portée de tous les laboratoires, sous la forme d'un cassette disponible dans le commerce, en test unitaire (SD TB Ag MPT64 Rapid®, Standard Diagnostics, Séoul, République de Corée, BD MGITTM TBc Identification Test, Becton Dickinson).

Les manipulations sont très simples et le matériel nécessaire réduit au minimum (une micropipette). Les résultats sont obtenus en 15 minutes environ , à partir des colonies ou des cultures en milieu liquide. En milieu liquide, la technique permet d'identifier les bacilles de la tuberculose, le jour même de la détection de la culture de mycobactéries (présence de baar) par les automates [106], ce que l'hybridation ne peut pas toujours faire (communication personnelle). La fiabilité des résultats est aussi bonne que celle des résultats de l'hybridation [106,107] . Le fabricant recommande de ne pas utiliser le test directement sur prélèvement, pour l'identification des bacilles observés à l'examen microscopique.

Enfin, l'identification par spectrométrie de masse (MALDI-TOF) est, comme pour les autres genres bactériens , en développement et pourrait, du fait de la simplicité d'utilisation, remplacer dans le futur les méthodes existantes.

- La culture est beaucoup plus sensible que l'examen microscopique mais elle nécessite plusieurs semaines ; elle permet une étude de la sensibilité aux antibiotiques.

- Les mycobactéries obtenues en culture sont le plus souvent caractérisées par hybridation avec des sondes complémentaires de séquences génomiques spécifiques.
- La détection par immuno-chromatographie, de la protéine MPT64 sécrétée spécifiquement par les mycobactéries du complexe *M. tuberculosis* est aussi fiable que celle des résultats de l'hybridation et permet d'obtenir un résultat en 15 minutes.

- **L'amplification génique**

Les tests d'amplification génique (TAG) ont pour finalité d'augmenter le nombre de copies d'un segment cible d'acide nucléique de manière à permettre sa détection . Ce sont des tests puissants dont le seuil théorique de sensibilité est d'une molécule d'ADN (ou d'ARN). Ce sont de plus des tests rapides car ils s'affranchissent du temps de multiplication des bacilles et ne reposent que sur des réactions enzymatiques. Appliqués au diagnostic de la tuberculose, ils permettent donc théoriquement de détecter rapidement la présence de bacilles du complexe *M. tuberculosis* dans les prélèvements en cas d'examen microscopique négatif et par conséquent de pallier la lenteur de la culture.

La première technique d'amplification employée consistait en une réaction simple de polymérisation en chaîne (PCR) de la séquence d'insertion IS6110 avec détection du fragment amplifié sur gel d'agarose. Elle a été vite remplacée par des techniques standardisées , utilisant des réactifs prêts à l'emploi et basées sur diverses cibles et divers procédés d'amplification : amplification par PCR d'une séquence d'ADN codant

L'ARN 16S des mycobactéries (Amplicor, Roche), amplification d'une séquence d'ARN ribosomal via un intermédiaire ADN (AMTDT, Gen Probe) ou encore amplification par déplacement de brin (BD Probe tec, Becton Dickinson) . Aujourd'hui, l'automatisation a pris le pas sur ces techniques, avec le Cobas Amplicor analyser (Cobas Amplicor MTB Test) et la PCR temps réel. Grâce à un indicateur de la production des amplicons qui émet une fluorescence (Taqman, molecular beacons. . .) on peut, avec la PCR temps réel, suivre la réaction

d'amplification et obtenir encore plus rapidement les résultats. Théoriquement, on peut aussi quantifier l'ADN initialement présent [108] . Mais le matériel requis, sophistiqué et coûteux (Light Cycler.) n'est pas accessible à tous les laboratoires. Deux nouvelles techniques, le LAMP Test (Loop Mediated isothermal amplification Test, Eiken Chemical Co) et la bandelette GenoQuick® MTB (Hain Science), qui ne demandent aucun équipement spécial, sont à la portée de beaucoup de laboratoires et semblent pouvoir être facilement adaptées en routine [105–109] . Avec le LAMP Test, l'amplification, qui est isothermique, ne nécessite pas de thermocycleur et la quantité d'ADN produite est telle qu'on peut le détecter à l'œil nu (sous la forme d'une émission spéciale de fluorescence ou d'une variation de turbidité. La bandelette GenoQuick® MTB vient d'être mise sur le marché. Comme avec la bandelette GenoType MTBDR (voir plus loin), les amplicons sont marqués puis repérés sous la forme d'une bande spécifique. Le fabricant n'a pas révélé la nature de la cible qui est amplifiée par PCR. La technique peut être automatisée.

Les résultats des TAG sont obtenus très rapidement, (potentiellement en 24 heures, voire même en une heure avec la PCR temps réel ou le LAMP test, si les tests sont mis en oeuvre tous les jours) mais, malgré les améliorations successives apportées, les TAG se sont malheureusement révélés moins performants dans la routine que la culture. La sensibilité est globalement la même pour toutes les méthodes, même les plus récentes . De 95 à 100 % lorsque les tests sont appliqués aux prélèvements riches en baar (à examen microscopique positif), elle tombe à 50 à 70 % lorsque les tests sont appliqués aux prélèvements pauvres en baar (examen microscopique négatif). La spécificité est, en moyenne, de l'ordre de 97 % [110].

La valeur prédictive d'un résultat positif (VPP), qui dépend de la prévalence de la tuberculose maladie chez les sujets dont les prélèvements sont soumis aux tests, est proche de 100 % en cas d'examen microscopique positif mais s'effondre en cas d'examen microscopique négatif (20 à 40 % pour les prélèvements respiratoires et moins de 10 % pour le liquide céphalorachidien). Les TAG peuvent donc servir utilement à identifier les bacilles du complexe *M.*

tuberculosis dans les prélèvements à examen microscopique positif. En revanche, avec les prélèvements à examen microscopique négatif, un résultat négatif obtenu ne permet pas d'exclure la tuberculose et un résultat positif risque fort d'être un faux-positif. Dans ces conditions, les TAG sont recommandés pour distinguer les bacilles de la tuberculose des mycobactéries atypiques dans les prélèvements à examen microscopique positif, ce qui est intéressant pour les malades profondément immunodéprimés (Sida. . .) ou pour les malades porteurs d'infections respiratoires chroniques pour lesquels la probabilité d'avoir une mycobactériose est élevée. Encore faut-il s'assurer, en cas de test négatif, de l'absence d'inhibiteurs de l'amplification dans le prélèvement, ce que la plupart des techniques récentes contrôlent systématiquement.

En revanche, les TAG ont peu d'intérêt pour le diagnostic de la tuberculose et la décision thérapeutique en cas de prélèvements à examen microscopique négatif. Leur utilisation sans discrimination dans cette situation, qui est celle pour laquelle ils ont été développés, n'est donc pas recommandée. Ils pourraient être utilement appliqués aux prélèvements à examen microscopique négatif provenant de malades hautement suspects de tuberculose [111]. En effet, si parmi ces derniers, la proportion de tuberculeux était de 10 %, elle serait nettement plus élevée que la proportion de faux-positifs (qui est de 3 %) et la VVP serait considérablement augmentée, atteignant alors au moins 80 %. Il reste à construire un score définissant ces malades hautement suspects de tuberculose.

Certains voudraient appliquer l'amplification génique à la mise en évidence de petits fragments d'ADN caractéristiques de *M. tuberculosis* dans l'urine (ADN transrénal). L'approche est séduisante, tout particulièrement pour le diagnostic des tuberculoses extrapulmonaires et des tuberculoses de l'enfant [112]. Elle pourrait aussi être intéressante pour les malades séropositifs pour le VIH. L'optimisation et la standardisation des techniques sont en cours [109].

- Les TAG permettent de détecter rapidement la présence d'acides nucléiques de bacilles du complexe *M. tuberculosis* dans des prélèvements et peuvent par conséquent pallier la lenteur de la culture.
- Malgré les améliorations successives apportées, ces tests se sont en routine avérés moins performants que la culture.
- Leur sensibilité est de 95 à 100 % lorsque les tests sont appliqués aux prélèvements riches en baar (à examen microscopique positif), et tombe à 50 à 70 % lorsque les tests sont appliqués aux prélèvements pauvres en baar (examen microscopique négatif). Leur spécificité est en moyenne de 97 %.
- La valeur prédictive d'un résultat positif est proche de 100 % en cas d'examen microscopique positif mais s'effondre en cas d'examen microscopique négatif (20 à 40 % pour les prélèvements respiratoires et moins de 10 % pour le liquide céphalorachidien).
- Les TAG sont recommandés pour distinguer les bacilles de la tuberculose des mycobactéries atypiques dans les prélèvements à examen microscopique positif, ce qui est intéressant en présence d'une immunodépression profonde.

10. Prévention

10.1 Vaccination

Le BCG est un vaccin vivant provenant d'une souche de *Mycobacterium bovis*, qui a été atténué par Calmette et Guérin à l'Institut Pasteur de Lille en France. Sa première administration chez l'homme remonte à 1921 [113]. Ce vaccin produit une immunité de surinfection comparable à celle acquise lors de la primo-infection. Cette immunité ne perdure que grâce à l'existence des bacilles vivants au sein de l'organisme [114].

L'injection est pratiquée par voie intradermique. La dose habituelle est de 0,05 mL chez les nouveau-nés et les nourrissons de moins de trois mois, et de 0,1 mL chez les autres enfants et l'adulte [115]. Dans les 2 à 3 semaines après la vaccination, une pustule rouge-bleuâtre

apparaît et s'ulcère après 6 semaines environ laissant une lésion d'environ 5 mm de diamètre . Des croûtes se forment et guérissent habituellement dans les 3 mois suivant la vaccination. La vaccination par le BCG laisse généralement une cicatrice permanente sur le site de ponction. Une personne vaccinée par le BCG doit avoir une IDR à la tuberculine positive trois mois après la vaccination [114].

Certaines complications peuvent survenir à la suite de ce vaccin. Leur fréquence est variable selon la souche bactérienne, la dose administrée, la méthode d'immunisation et l'âge du vacciné ; les complications les plus fréquentes sont d'ordre locorégionales à type d'adénites ou d'ulcération ou de cicatrice chéloïde. Des complications graves à type d'ostéite et d'infections généralisées à BCG sont rares et peuvent survenir chez les enfants immunodéprimés [116].

Il est prouvé que la vaccination par le BCG des nouveau-nés et des enfants d'âge préscolaire permet, lorsqu'elle est bien pratiquée, de les protéger efficacement contre toutes les formes de la tuberculose infantile et spécialement contre les formes graves et parfois mortelles de la maladie, essentiellement la méningite et la miliaire tuberculeuses [117-115] . Chez l'enfant, l'effet protecteur du BCG vis-à-vis de ces deux formes varie de 60 à 90 % [115] . Son effet sur la prévention des formes de l'adulte, en particulier les tuberculoses pulmonaires, est très discuté. De nombreuses études ont remis en question son efficacité, d'autres lui accordent une efficacité pouvant atteindre 80 % [115] .Malgré les incertitudes et les controverses portant sur son efficacité, il est cependant largement admis que la vaccination par le BCG doit être pratiquée dans les pays où la tuberculose continue à représenter un important problème de santé publique [118-115] . L'OMS recommande d'appliquer une politique de vaccination de routine par le BCG pour tous les nouveau-nés, à l'exception de ceux dont on sait qu'ils sont infectés par le VIH [119]. Elle a récemment insisté sur l'inutilité des contrôles tuberculiques et des revaccinations . Dans les pays à faible incidence de la tuberculose, la vaccination doit cibler les populations à haute prévalence potentielle tels que les émigrés provenant d'un pays à forte prévalence.

Plus d'une trentaine de nouveaux vaccins potentiellement plus efficace que le BCG sont en cours de développement dont douze en phase d'essais cliniques. Certains de ces vaccins auraient un effet potentialisateur sur le BCG et pourraient même être utilisés chez les sujets immunodéprimés [119].

10.2 Chimio prophylaxie ou traitement de l'ITL

Les personnes porteuses d'une ITL représentent un réservoir du *M. tuberculosis* et peuvent devenir une source de contagion lors de la réactivation de l'infection [120]. La décision de traiter l'ITL doit prendre en compte les effets indésirables potentiels du traitement d'une part et le risque de développer une tuberculose active d'autre part [121]. Il est évident que le traitement des sujets à haut risque de développer une tuberculose active représente une mesure préventive à l'échelle individuelle et collective. Après la contamination par le *M. tuberculosis*, le risque de développer une tuberculose active est influencé par l'ancienneté de l'infection, l'âge du patient et son statut immunitaire. Le risque est plus élevé dans les deux premières années après l'infection et plus particulièrement chez les jeunes enfants [122]. Beaucoup de maladies et de traitements peuvent augmenter le risque de réactivation par baisse de l'immunité, mais le principal facteur de risque reste à ce jour l'infection par le VIH [123]. D'autres conditions pathologiques telles que le diabète, l'insuffisance rénale, la malnutrition ou certains cancers, ainsi que l'utilisation excessive d'alcool et le tabagisme peuvent favoriser la réactivation du *M. tuberculosis*. Tous les traitements immunosuppresseurs en particulier ceux agissant sur l'immunité cellulaire peuvent être source de réactivation de la tuberculose. Avant que le traitement de l'ITL ne soit démarré, une potentielle tuberculose active doit être exclue. Le concept de monothérapie par l'isoniazide (INH) pour traiter l'ITL a été proposé par Mount et Ferebee [124]. Cela a été confirmé par la suite dans plus d'une dizaine d'essais randomisés portant sur plus de 100 000 patients. Dans ces essais, l'INH a été efficace et aucune toxicité excessive n'a été signalée [124-125]. L'épidémiologiste Comstock s'est intéressé à l'efficacité et la tolérance des différents régimes utilisant l'INH en monothérapie. Il conclut que l'efficacité

protectrice de l'INH augmente avec la durée d'administration pour atteindre un maximum de 90 % à 9 mois [126] . Au-delà de cette durée, il n'existe aucune amélioration, alors qu'une augmentation des effets indésirables est constatée . Une méta-analyse comparant les études faites sur les régimes à base de monothérapie par INH et les régimes comportant une bithérapie incluant INH et rifampicine (RMP) pendant 3 mois n'a pas mis en évidence de différence entre ces deux régimes [127] . La norme actuelle pour le traitement de l'ITL est l'INH auto-administré quotidiennement pendant 9 mois , mais d'autres schémas thérapeutiques alternatifs restent acceptables comme l'administration quotidienne d'INH pendant 6 mois ou l'administration quotidienne d'INH associé à la RFM pendant 3 à 4 mois . Des publications récentes ont rapporté une bonne efficacité de l'administration hebdomadaire d'INH associé à la Rifapentine pendant 12 semaines [128]. Cependant , l'innocuité et l'efficacité de ce régime chez les enfants et les personnes infectées par le VIH est en cours d'évaluation.

10.3 Cas particuliers

a) La grossesse

Chez la femme enceinte, il existe un risque élevé d'hépatotoxicité en post-partum. En dehors d'un très haut risque de réactivation, le traitement de l'ITL en post-partum pourrait être reporté au plus tard 3 mois après l'accouchement. Ce traitement peut être administré en toute sécurité aux femmes allaitantes

b) Contamination par un Mycobacterium tuberculosis résistant

Chez les sujets en contact avec des patients atteints de tuberculose résistante, le choix de l'antituberculeux dépend du type de résistance. Ainsi, on préconise une cure de quatre mois de RMP en cas de résistance à l'INH, un traitement de 9 mois d'INH en cas de résistance à la RMP et une thérapie à base de lévofloxacine ou de moxifloxacine pendant 9 mois en cas de double résistance à l'INH et à la RMP [129-125] .

c) **Chimioprophylaxie de la tuberculose chez les sujet VIH+.**

Les formes asymptomatiques ou infraclinique de la tuberculose pulmonaire sont fréquentes chez les patients infectés par le VIH. Ces formes peuvent atteindre 10 % des cas dans les régions où la tuberculose est endémique. Près de 25 % des patients porteurs de sida ont une tuberculose pulmonaire non diagnostiquée. Par conséquent, le dépistage de la tuberculose est fortement recommandé pour tous les patients infectés par le VIH [119–123]. En cas de suspicion de tuberculose pulmonaire latente, un traitement préventif est recommandé par l'OMS depuis 1998. Chez les patients au stade de sida, l'OMS recommande depuis 2011, un traitement préventif de la tuberculose en particulier dans les pays à forte endémicité, quel que soit le résultat de l'IDR à la tuberculine, après élimination d'une tuberculose patente [123]. Ce traitement est à base d'isoniazide à une dose de 300 mg/j pendant au moins six mois. Il peut être prolongé pendant 36 mois dans les pays à forte prévalence de la tuberculose. Cette chimioprophylaxie doit être administrée à ces patients quel que soit le degré d'immunodépression et ne doit pas retarder le début du traitement antirétroviral [123]. Plusieurs autres protocoles thérapeutiques ont été utilisés faisant appel à différentes combinaisons d'antituberculeux, cependant aucune supériorité à la monothérapie par INH n'a été prouvée [123].

d) **Chimioprophylaxie de la tuberculose chez les patients sous traitements inhibant le TNF alpha.**

Actuellement, le traitement par les anti-TNF alpha est largement utilisé dans la prise en charge des maladies inflammatoires chroniques rhumatismales et intestinales. Cependant, ce traitement expose à un risque élevé de réactivation de l'ITL. En 2001, Keane et al. ont rapporté une série de 70 patients ayant développé une tuberculose sous traitement anti-TNF [130]. Depuis, de nombreuses sociétés savantes se sont intéressé au sujet et ont élaboré des recommandations [131,132]. Ces recommandations soulignent la difficulté du dépistage de l'ITL chez ces sujets et les limites du traitement dans certaines situations. Elles affirment que le dosage de l'interféron semble être plus sensible et plus spécifique que l'IDR. Cependant, le

clinicien doit attacher plus d'importance au contexte épidémique et au risque d'exposition qu'aux résultats des tests immunologiques . Sur le plan chimioprophylactique , deux schémas peuvent être proposés à savoir l'isoniazide seul pendant 9 mois ou l'association isoniazide-rifampicine pendant 3 mois. La prophylaxie doit être démarrée au moins 3 semaines avant le début de traitement par anti-TNF alpha [132].

e) **Mesures de prévention de contact**

La principale mesure de prévention de la transmission est l'isolement du patient, qui doit être hospitalisé en chambre individuelle, ou dans une unité dédiée aux tuberculeux et signalée en tant que telle. Il doit être sensibilisé sur le risque de contamination qu'il présente et doit limiter ses déplacements au sein de la structure hospitalière en portant un masque de type « masque chirurgical » à chaque sortie de sa chambre . Par ailleurs, la chambre du patient doit être suffisamment aérée afin d'assurer le renouvellement régulier de l'air. Cette aération peut se faire par une ventilation naturelle telle que l'ouverture régulière des fenêtres ou plus efficacement par une ventilation artificielle pouvant assurer un renouvellement de l'air quelles que soient les conditions météorologiques. Actuellement, les chambres à flux et les chambres à pression négative représentent des moyens efficaces pour éviter la diffusion du germe dans le reste du service. De même, tout matériel contaminé doit être désinfecté d'une manière efficace contre le BK . Enfin, d'autres mesures visent les sujets en contact avec le patient, comme le personnel médical, qui doivent porter un masque de type « pièce faciale filtrante contre les particules » (FFP) à chaque fois qu'ils rentrent dans la chambre. Ce personnel doit être soumis à une surveillance dans le cadre de la médecine de travail par la pratique régulière d'IDR et de radiographie du thorax.

11. Traitement

11.1 Traitement médical

a) Principes du traitement antituberculeux

Une lésion tuberculeuse comporte 2 populations bacillaires différentes :

- une population très riche, présente dans les cavernes , dont la multiplication rapide est responsable du développement de colonies d'emblée résistantes à chacun des antibiotiques, ce qui interdit la monothérapie et justifie une phase initiale de traitement intensif basé sur l'administration simultanée de plusieurs antibiotiques ;
- une population à multiplication plus lente, présente dans les foyers caséux solides et dans les macrophages, moins accessible aux antibiotiques et pouvant être à l'origine de rechutes. L'éradication de ces bacilles nécessite une phase de consolidation prolongée sur plusieurs mois.

b) Médicaments antituberculeux

Quatre antituberculeux sont utilisés en 1^{re} ligne:

- l'isoniazide et la rifampicine, dits antituberculeux majeurs car ils ont les propriétés suivantes : ils sont bactéricides ; leur bonne diffusion leur permet d'atteindre les bacilles intra- et extracellulaires ; la résistance naturelle du bacille tuberculeux à ces médicaments est relativement rare (1/108 pour la rifampicine et 1/105 pour l'isoniazide) ;
- l'administration simultanée de ces 2 antibiotiques permet une réduction rapide du nombre de BK extracellulaires et donc une négativation rapide des expectorations ;
- le pyrazinamide , efficace sur les bacilles intracellulaires , permet d'abrégé la durée du traitement ;
- l'éthambutol, bactériostatique.

Outre ces 4 médicaments essentiels, la streptomycine peut, dans certains cas, remplacer l'éthambutol. La posologie de ces antituberculeux figure dans le Tableau X. Des combinaisons fixes de 2 ou plusieurs antituberculeux existent et sont recommandées par l'OMS, leur intérêt est de limiter les erreurs de prescription, simplifier le traitement par la diminution du nombre quotidien de comprimés à prendre, ce qui favorise l'adhésion du patient au traitement [133] et évite le risque d'une prise irrégulière d'un ou plusieurs antibiotiques. En effet, il y a une possibilité de prescription d'une spécialité commercialisée associant dans le même comprimé rifampicine, isoniazide et pyrazinamide (1 comprimé/12 kg de poids par jour) 2 mois, à associer à l'éthambutol. Une autre spécialité associe dans le même comprimé rifampicine et isoniazide (1 comprimé par 30 kg par jour) 4 mois, qui a l'avantage a priori d'une meilleure observance et d'une meilleure prévention de la sélection de mutants résistants.

Tableau X: Posologies recommandées pour les médicaments antituberculeux

Médicaments	Posologie recommandée de prise quotidienne mg/kg
Rifampicine (R)	10 (8—12) max 600 mg
Isoniazide (H)	(4—6) max 300 mg
Pyrazinamide (Z)	25 (20—30)
Éthambutol (E)	15 (15—20)
Streptomycine (S)	15 (12—18)

c) **Schémas thérapeutiques**

Le schéma thérapeutique varie selon que le patient ait été ou non traité antérieurement mais dans tous les cas, il comprend deux phases distinctes :

- ❖ une phase initiale ou intensive qui dure deux mois et qui sert à détruire rapidement les bacilles de *M. tuberculosis* , à prévenir l'apparition de bacilles résistants et à faire disparaître la contagiosité ;
- ❖ une phase d'entretien : de durée variable selon la situation clinique. Cette phase sert à stériliser les lésions et prévenir ainsi les rechutes .En pratique, il existe trois situations cliniques nécessitant des schémas thérapeutiques différents :
- ❖ les nouveau cas ;
- ❖ les cas de retraitement ;
- ❖ la tuberculose multirésistante : TB-MR [134] .

Schémas thérapeutiques pour les nouveaux cas de tuberculose pulmonaire Plusieurs protocoles thérapeutiques ont été validés. Les schéma standard comporte 2 phases :

- ❖ une phase initiale intensive associant les 4 antituberculeux : isoniazide (H), la rifampicine (R), le pyrazinamide(Z) et l'éthambutol (E), durant 2 mois (2HRZE) ;
- ❖ suivie d'une phase de consolidation associant les 2 antituberculeux majeurs durant 4 mois : 4HR (Tableau XI)

Tableau XI: Schéma standard pour les nouveaux cas de tuberculose pulmonaire [135].

Sensibilité présumée (ou établie) aux antituberculeux	
Phase intensive	Phase d'entretien
2 mois de HRZE	4 mois de HR

Certains auteurs envisagent une trithérapie lorsque le risque de résistance est jugé minime [136] . La phase initiale doit être prolongée d'un mois si l'examen direct est encore positif à 2 mois et si le résultat de l'antibiogramme n'est pas encore disponible. Schémas thérapeutiques pour les patients antérieurement traités Chez tous les patients tuberculeux ayant déjà suivi un traitement, l'historique du traitement antérieur doit être bien documenté afin

d'évaluer le risque de résistance .Il est par ailleurs recommandé, chaque fois que cela est possible, d'effectuer une mise en culture et un antibiogramme au début du traitement afin de détecter précocement une éventuelle résistance, notamment une multirésistance , celle-ci étant 5 fois plus fréquente en cas de retraitement que chez les nouveaux cas (15 % vs 3 %) [137,138] . Le traitement antibiotique doit être strictement adapté à la sensibilité des bacilles. Dans l'attente des résultats des cultures et de l'antibiogramme, le traitement empirique variera selon l'importance du risque de multirésistance .En cas de faible risque de multirésistance Le risque est considéré faible lorsqu'il s'agit d'une rechute ou d'un retraitement après interruption ; dans cette situation, le traitement recommandé comporte 5 médicaments par l'adjonction de streptomycine à HRZE pendant 2 mois, puis 4 médicaments pendant 1 mois et 3 médicaments pendant 5 mois (2SHRZE/1HRZE/5HRE). Le traitement sera secondairement adapté aux données de l'antibiogramme . Pour certains, la streptomycine est remplacée par l'amikacine ou une fluoroquinolone [136] . Ce régime de retraitement est surtout recommandé dans les pays à faible taux de résistance primaire et pour les patients ayant reçu la rifampicine durant au moins les 2 premiers mois du traitement initial [139] . Par ailleurs ce régime n'est pas adopté par tous : dans certains pays, dans l'attente des résultats des cultures et de l'antibiogramme, il est recommandé de suivre le schéma classique en prolongeant la phase de consolidation de 2 mois [140,141] . En cas de risque élevé de multirésistance ce sont les cas d'échec d'un traitement antérieur et les cas d'exposition à un patient ayant une tuberculose multirésistante . Il est recommandé dans ces situations, en attendant le résultat de l'antibiogramme, de prescrire un schéma thérapeutique de tuberculose multirésistante [134–142].

d) Modalités pratiques du traitement

- Bilan préthérapeutique

Ce bilan est essentiellement clinique et comporte :

- ❖ La pesée du malade en vue d'adapter la posologie des médicaments au poids

- ❖ un interrogatoire minutieux à la recherche de pathologies nécessitant d'adapter le traitement (neuropsychiques , hépatiques ou rénales), ainsi que les prises médicamenteuses concomitantes (contraceptifs, digitaliques), susceptibles d'avoir leurs métabolismes modifiés par le traitement antituberculeux ;
- ❖ un dosage initial des transaminases , de la créatinine et de l'acide urique est souhaitable en prévision d'éventuels effets indésirables ;
- ❖ un bilan ophtalmique : champs visuels, vision des couleurs et fond d'œil .

- Règles générales du traitement

L'administration des médicaments obéit aux règles suivantes :

- ❖ elle est quotidienne. Dans certains pays, en phase de continuation, un traitement intermittent est envisagé, 3fois par semaine, sauf chez les patients infectés par le VIH [136]. Cependant, le taux de rechute lors d'un traitement intermittent semble être supérieur à celui de l'administration quotidienne des médicaments, surtout lorsqu'il existe des cavernes tuberculeuses [143], de même que la négativation des expectorations est plus tardive [142-144] ;
- ❖ la dose totale est administrée en une prise unique. En cas d'intolérance digestive, cependant, le traitement peut être administré en 2 prises [136] ;
- ❖ le traitement doit être administré à jeun afin d'obtenir une absorption maximale de la rifampicine et de l'isoniazide ;
- ❖ la supervision directe du traitement (*directly observed treatment* [DOT]) est recommandée, notamment durant la phase initiale, afin de limiter les risques d'interruption du traitement et donc de résistance acquise au traitement .

- Isolement en milieu hospitalier

L'hospitalisation du patient tuberculeux n'est ni obligatoire ni médicalement nécessaire. L'isolement, qui peut être réalisé à l'hôpital ou à domicile, sert à protéger l'entourage d'une éventuelle source de contagion laquelle peut être évaluée à 10 à 15 jours. Lorsque la tuberculose n'est pas contagieuse, que les patients ne présentent pas de pathologies concomitantes et qu'ils vivent dans un milieu social favorable, le traitement peut être effectué en ambulatoire. La levée de l'isolement peut être décidée au vu de l'amélioration clinique, du retour à l'apyrexie et d'une négativation de l'examen microscopique direct des crachats. En cas de doute sur l'existence d'une résistance des bacilles (zone d'endémie, patient multitraité. . .), l'isolement doit être prolongé.

***Suivi du traitement**

Un suivi régulier du patient est nécessaire dans le but d'évaluer l'efficacité du traitement et de détecter tout effet indésirable éventuel

- Surveillance de l'efficacité du traitement

La surveillance de l'efficacité du traitement se base sur :

- ❖ l'examen clinique : surveillance de la température, du poids et de la symptomatologie fonctionnelle ;
- ❖ la radiographie du thorax : il est recommandé d'effectuer une radiographie thoracique en fin de traitement. Un contrôle radiologique se justifie à 2 mois de traitement pour s'assurer de l'évolution favorable mais elle n'est pas absolument indispensable
- ❖ les examens bactériologiques doivent être réalisés à 2 mois, 5 mois et 6 mois de traitement antituberculeux :
 - ✓ la négativation bactériologique de l'expectoration est généralement obtenue au cours des 2 premiers mois de traitement ,

- ✓ dans le cas contraire, l'observance thérapeutique du malade doit être vérifiée ainsi qu'une éventuelle résistance du BK, sur les données de l'antibiogramme,
- ✓ si l'observance thérapeutique est confirmée et en l'absence de résistance du BK, le traitement initial sera maintenu et la recherche de BK dans les crachats sera répétée à la fin du 3^e mois. Le traitement d'entretien sera démarré à la négativation de cet examen ;
- ✓ en cas de tuberculose pulmonaire à microscopie négative :
- ✓ l'efficacité du traitement s'apprécie sur l'évolution clinique et radiologique ;
- ✓ en cas de tuberculose extrapulmonaire :
- ✓ l'efficacité du traitement s'apprécie sur l'évolution clinique et sur différents examens complémentaires (biologie, imagerie) jugés nécessaires par le spécialiste concerné .

- Surveillance de la tolérance

La recherche d'effets indésirables du traitement se base sur la clinique .Les examens biologiques ne sont pas systématiques mais orientés par les anomalies observées.

e) Localisations particulières

- Tuberculose neuroméningée

Pour la localisation neuroméningée , il est recommandé de prolonger la phase de consolidation à 10 mois en raison de la variabilité de la pénétration des médicaments dans le liquide céphalorachidien [138-145,146]. Le schéma thérapeutique est le suivant : quadrithérapie pendant deux mois suivie par une bithérapie (HR) pendant dix mois . La recommandation est de remplacer l'éthambutol par la streptomycine (HRZS) ou l'amikacine . Enfin, l'intérêt d'une corticothérapie associée a été démontré dans cette localisation [147,148,149] .

- Tuberculose disséminée

La miliaire tuberculeuse (MT) constitue la forme la plus grave de la tuberculose résultant de la dissémination, le plus souvent hématogène, du bacille tuberculeux dans l'ensemble des viscères de l'organisme. Le caractère disséminé de cette forme incite à la recherche d'une localisation méningée. Devant toute suspicion clinique, une ponction lombaire et/ou une IRM cérébrale sont demandées afin de mettre en évidence une lésion du système nerveux central et d'adapter ainsi le choix thérapeutique [145]. Malgré l'efficacité prouvée des antituberculeux, le taux de mortalité reste élevé en rapport avec des complications évolutives et au terrain sur lequel elle survient. En effet, au cours de l'évolution de la MT, plusieurs complications peuvent se voir, telles que le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) et surtout les complications hématologiques à type de pan-cytopénie et de syndrome d'activation macrophagique. La réponse au traitement antituberculeux de première ligne est habituellement bonne. Il existe cependant un risque de toxicité hépatique et d'interférences médicamenteuses chez les patients traités pour une infection par le VIH. Le retard au traitement spécifique s'avère être le facteur de risque de mortalité le plus important. L'association d'une corticothérapie peut être envisagée en cas de méningite, de SDRA ou d'épanchements péricardique ou pleural persistants.

- Tuberculose ganglionnaire

Le traitement préconisé est la quadrithérapie classique 2HRZE/4HR [135-150,151] avec un taux de rechute d'environ 3% [152]. L'augmentation du volume de l'adénite ou même l'apparition de nouvelles adénopathies sont des complications plutôt fréquentes au cours ou même après la fin du traitement [153,154]. La réapparition des adénites en principe stériles ne justifie pas la reprise ni la prolongation du traitement [135]. Pour les adénites volumineuses, les fistulisations spontanées doivent être évitées par l'aspiration évacuatrice répétée à l'aiguille fine et la fistulisation dirigée par pose d'une mèche avec des lavages à la bétadine. Le recours à l'ablation chirurgicale, aux résultats souvent très inesthétiques, doit être évité.

- **Tuberculose ostéoarticulaire**

Le traitement médical proposé est 2HRZE/4HR pour l'OMS [40] , 2HRZE/7HR pour d'autres, tels que l'ATS/CDC . Le traitement chirurgical n'est indiqué qu'en présence de symptômes neurologiques de compression . La spondylodiscite avec atteinte multi-étagée est fréquente. Il convient de rechercher systématiquement les abcès froids et les atteintes neurologiques [155] . Le drainage des collections sous scanner est recommandé avec éventuelle pose d'un pigtail [156] . Afin d'éviter des complications neurologiques, il est indispensable de garder une surveillance clinique régulière lors de l'évolution (recherche d'atteinte cervicale ou dorsale).Le contrôle radiologique se fera à deux mois de traitement (recherche d'abcès).

Tableau XII : tableau récapitulatif du traitement de la tuberculose

	Durée du traitement	Protocole
Tuberculose pulmonaire et extra-pulmonaire (1er épisode)	6 mois	2HRZE/4HR
méningite et ostéo-articulaire	9 mois	2HRZE/7HR
rechute / inobservance	8 mois	2HRZES/1HRZE/5HRE

f) **Situations particulières**

- **Enfant de 5 à 15 ans**

Le traitement antituberculeux à cet âge est le traitement standard, même si l'AMM est limitative dans la prescription du pyrazinamide et de l'éthambutol à cet âge.

- Enfant de moins de 5 ans

Chez l'enfant de moins de 5 ans la rifampicine est donnée à dose usuelle de 10 mg/kg. La posologie de l'isoniazide est plus élevée chez le très jeune. L'éthambutol n'est utilisée que quand cela est nécessaire. L'utilisation des potentiels évoqués visuels permet de détecter un trouble de la vision induit par l'éthambutol. Le pyrazinamide qui n'a pas l'AMM chez l'enfant peut cependant être utilisé après analyse du bénéfice/risque, même chez le tout petit. Il est ainsi possible d'utiliser le traitement antituberculeux standard chez le tout petit, mais des adaptations du traitement sont plus fréquentes à cet âge.

g) Traitement de la tuberculose en cas de pathologies associées :

- Pathologie hépatique

Lors de l'atteinte hépatique chronique, le pyrazinamide est contre indiqué. On a recours à l'association d'isoniazide (H), rifampicine (R) et éthambutol (E) pour une durée de neuf mois [157,158].

- Insuffisance rénale

H et R ayant une élimination biliaire, ils peuvent être utilisés sans modification de leurs posologies. Une adaptation des doses est nécessaire pour l'éthambutol . En cas d'insuffisance rénale sévère et pour les tuberculoses non bacillifères , le protocole proposé est 2HRZ/6HR [159].

- Tuberculose et immunodépression

Le schéma thérapeutique au cours de la tuberculose chez un sujet immunodéprimé est le même schéma standardisé que celui d'un immunocompétent [160,161] . Pour les sujets infectés par le VIH, présentant une tuberculose non résistante et chez qui l'amélioration sous traitement est lente, certains recommandent de prolonger la durée du traitement. Ceci permettrait d'avoir un succès thérapeutique optimal et diminuerait le taux de rechute [162] .

Lorsqu'une infection par le VIH est diagnostiquée chez des personnes atteintes de tuberculose active et qu'un traitement antirétroviral est indiqué, la priorité est de débiter un traitement antituberculeux ; le traitement antirétroviral (TAR) sera instauré dans les deux semaines suivant le démarrage du traitement antituberculeux [160]. Toutefois sur des études récentes, l'instauration en parallèle des deux traitements aurait un bénéfice sur le plan du pronostic [163]. Un problème majeur se pose en rapport avec l'interaction entre les antituberculeux et les antirétroviraux. Il est recommandé par plusieurs spécialistes d'administrer un TAR à base d'éfavirenz (EFV) et un traitement antituberculeux à base de rifampicine, en doses standard en cas de coinfection tuberculose/VIH. Toutefois, d'autres options sont possibles [150]. Le syndrome inflammatoire de reconstitution immunitaire (IRIS) observé parfois chez les patients atteints d'une coinfection tuberculose/VIH se caractérise par l'exacerbation temporaire des manifestations cliniques et radiographiques de la tuberculose rappelant la réactivation de la tuberculose sous traitement. Cette réaction paradoxale chez les personnes séropositives serait due à une reconstitution immunitaire, en résultat soit du traitement contre la tuberculose seul, soit du démarrage du TAR avec un traitement antituberculeux concomitant. Un examen approfondi est nécessaire pour exclure les autres causes, en particulier l'échec du traitement antituberculeux, avant de diagnostiquer une réaction paradoxale. Un traitement anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien peut atténuer les symptômes [164,165].

- Tuberculose pendant la grossesse et l'allaitement

La streptomycine est contre-indiquée. Le traitement répond au schéma thérapeutique classique 2RHZE/4RH [135]. Un apport vitaminique B6 est recommandé pour la femme enceinte et allaitante. Il faudrait également supplémenter le nouveau-né de mère tuberculeuse recevant un traitement comprenant l'isoniazide par de la vitamine K afin d'éviter les hémorragies en post-partum.

11.2 .La chirurgie dans la tuberculose thoracique

La tuberculose malgré sa résurgence et l'apparition de formes multirésistantes qui constituent un problème majeur dans certains pays en Europe de l'Est et en Asie, reste une maladie médicale où la chirurgie n'est qu'un traitement complémentaire. En 2013, un article de Bertolaccini et al.(Turin) titrait « La chirurgie de la tuberculose pulmonaire : le phénix de la chirurgie thoracique » [166] . Nous pensons que la chirurgie thoracique moderne a permis de substituer à la chirurgie héroïque de la première moitié du xxe siècle avec XXe siècle avec ses interventions itératives, mutilantes et ses malades désespérément chroniques, dont certains accompagnaient leur chirurgien pendant toute sa carrière, une chirurgie plus réfléchie et plus précise dont les bénéficiaires, mieux explorés et mieux préparés ont des suites opératoires similaires à celles des autres pathologies. Grâce à un bilan précis, permis par l'imagerie moderne et à l'expertise des équipes , la majorité des interventions diagnostiques et même certaines résections sur des malades sélectionnés se font par une chirurgie mini-invasive. Tout ceci nécessite une étroite collaboration entre pneumologues, bactériologistes, chirurgiens, anesthésistes, physiothérapeutes et nutritionnistes pour amener à la chirurgie un patient bien préparé . La chirurgie de la tuberculose ne renaît donc pas de ses cendres, puisqu'elle n'est jamais morte, mais elle retrouve aujourd'hui une nouvelle jeunesse.

a) Indications de la chirurgie

La chirurgie peut être indiquée dans un but diagnostique devant des lésions pulmonaires, pleurales, médiastinales ou de la paroi thoracique suspectes ou dans un but thérapeutique (drainage, exérèse, comblement d'une cavité résiduelle).

- Chirurgie à visée diagnostique décidée devant

- ❖ des lésions parenchymateuses fermées suspectes de malignité où les bacilloscopies et les cultures de BK restent négatives, souvent qualifiées de « tuberculose pseudo-tumorale » ;

- ❖ un épanchement pleural ou un empyème dont l'étiologie tuberculeuse n'a pu être confirmée par les recherches bactériologiques dans le liquide de ponction et/ou les biopsies ;
 - ❖ une tuméfaction ou collection de la paroi thoracique d'étiologie à déterminer ;
 - ❖ des adénopathies médiastinales d'étiologie douteuse dont seules des techniques invasives (ponctions biopsies transpariétales, transbronchiques voire médiastinoscopie outhoroscopie) pourront prouver avec certitude l'origine tuberculeuse.
- **Chirurgie à visée curative indiquée devant :**
- ❖ des lésions séquellaires : lésions cicatricielles scléreuses , rétractiles d'une tuberculose guérie :
 - ❖ caverne résiduelle compliquée de surinfections, hémoptysies et souvent de greffe aspergillaire ,
 - ❖ des lésions de bronchectasies rétractiles avec lobe ou poumon détruit ,
 - ❖ un empyème fait d'une poche pleurale enkystée rigide parfois associée à des lésions parenchymateuses avec ou sans fistule broncho-pleurale ;
 - ❖ des lésions de tuberculose multirésistante active où le traitement médical usuel risque d'être inefficace ;
 - ❖ des hémoptysies graves par leur abondance ou répétitives, chez un patient aux antécédents connus ou non de tuberculose.

11.3 Traitement adjuvant

Les autres traitements sont les suivants :

- ❖ corticothérapie : elle est discutée en cas de péricardite , méningite, miliaire, tuberculome cérébral et obstruction bronchique, surtout chez l'enfant ;

- ❖ vitamine B6 : indiquée chez les patients à risque (grossesse, alcoolisme, dénutrition, neuropathie préexistante , insuffisance rénale, infection par le VIH) dans le but de prévenir la neuropathie périphérique causée par l'isoniazide ;
- ❖ compléments alimentaires : en cas de dénutrition.

12. Résistance aux antibacillaires

On utilise les médicaments antituberculeux depuis des décennies et on a mis en évidence des souches résistantes à un ou plusieurs médicaments dans chaque pays étudié. La résistance apparaît quand les médicaments antituberculeux ne sont pas utilisés comme il faut, du fait de prescriptions incorrectes de la part des professionnels de la santé, de médicaments de mauvaises qualité ou des patients qui interrompent prématurément leur traitement.

La tuberculose multirésistante (tuberculose-MR) est une forme de la maladie due à un bacille ne réagissant pas à l'isoniazide et à la rifampicine, les deux médicaments antituberculeux de première intention les plus efficaces. On peut néanmoins soigner et guérir la tuberculose-MR avec des médicaments de deuxième intention. Ces options thérapeutiques sont toutefois plus limitées et nécessitent une administration de longue durée (jusqu'à deux ans de traitement) de médicaments à la fois chers et toxiques.

Dans certains cas, une résistance plus sévère peut se développer. La tuberculose ultrarésistante (tuberculose-UR) est une forme encore plus grave de tuberculose-MR due à des bacilles ne répondant pas aux médicaments de deuxième intention les plus efficaces, laissant souvent les patients sans aucune autre option thérapeutique.

12.1 Définition

- ✓ **Monorésistance:** résistance à un seul antituberculeux de première intention.
- ✓ **Polyrésistance:** résistance à plusieurs antituberculeux de première intention, autres que l'isoniazide et la rifampicine à la fois.

- ✓ **Multirésistance (MR):** résistance à l'isoniazide et à la rifampicine, au moins.
- ✓ **Ultrarésistance (UR) :** multirésistance à laquelle s'ajoute une résistance à n'importe quelle fluoroquinolone et à au moins un des trois antituberculeux injectables de deuxième intention (capréomycine, kanamycine et amikacine).
- ✓ **Résistance à la rifampicine (RR):** résistance à la rifampicine détectée à l'aide de méthodes phénotypiques ou génotypiques, avec ou sans résistance à d'autres antituberculeux. Englobe toute résistance à la rifampicine, dans le cadre d'une monorésistance, d'une polyrésistance, d'une MR ou d'une UR.
- ✓ **Les nouveaux patients** n'ont jamais reçu de traitement antituberculeux ou suivent un tel traitement depuis moins d'un mois.
- ✓ **Les patients déjà traités** ont reçu dans le passé un traitement antituberculeux pendant un mois ou plus. Ils sont classés selon le résultat thérapeutique de leur dernière cure
- ✓ **Les patients en rechute** ont déjà reçu un traitement antituberculeux, ont été, à la fin de leur dernière cure, classés dans la catégorie guérison ou traitement terminé, et sont aujourd'hui diagnostiqués comme présentant un épisode récurrent de tuberculose (rechute proprement dite ou nouvel épisode dû à une réinfection).
- ✓ **Les patients traités après un échec thérapeutique** sont ceux qui ont déjà été traités→ pour la tuberculose et chez qui la dernière cure n'a pas fonctionné (échec thérapeutique). Les patients traités après avoir été perdus de vue ont déjà reçu un traitement→ antituberculeux et ont été déclarés perdus de vue à l'issue de leur dernière cure. (On parlait auparavant de « patients traités après interruption»).
- ✓ **Les autres patients déjà traités** sont ceux qui ont déjà reçu un traitement→ antituberculeux, mais chez qui les résultats de la dernière cure sont soit inconnus soit non documentés.

- ✓ **Les patients sans antécédents connus** de traitement antituberculeux ne rentrent dans aucune des catégories ci-dessus.

- ✓ **des cas incidents** sont les nouveaux cas et les cas de rechute

12.2 Facteurs de risque

Dans tous les pays et surtout ceux faisant face à de graves problèmes économiques, les prescriptions fantaisistes, les difficultés d'accès aux soins, l'irrégularité dans l'administration et la prise de tous les antibiotiques sont encore responsables de monothérapies, et par conséquent d'acquisition de résistances secondaires puis de résistances primaires. **Âge** ; dans la littérature, la prédominance des sujets jeunes (entre 25 et 44 ans) parmi les patients touchés par la MDR-TB est notée [167]. **Sexe** ; la résistance à l'INH est plus fréquente chez les hommes avec un sex-ratio de 1,5. Les études montrent des ratios allant de 1,5 à 8 en faveur des hommes [168,169,170,171,172] . **Origine** ; dans la littérature le fait d'avoir une origine étrangère : orientale, asiatique et africaine ou être originaire des régions chaudes, dont la prévalence de la MDR-TB est supérieure à 3 %, est un facteur de risque de tuberculose MDR . **Conditions socio-économiques** ; la TB est connue comme la maladie de la pauvreté de la malnutrition par les perturbations des défenses immunitaires cellulaires qu'elle peut engendrer. Les mauvaises conditions d'hygiène et la forte densité sont propices à une prolifération des bacilles. Une MDR-TB doit donc être évoquée chez tout patient en situation de précarité [173] . **Tabac** ; la relation entre le tabagisme et la multirésistance reste à l'heure actuelle discutée. **Alcool** ; les éthyliques seraient généralement inobservants à leurs traitements, ce qui favorise le développement des résistances. L'alcoolisme est un facteur de réactivation de la TB et de sélection des mutants résistants. L'alcoolisme peut être responsable d'une cirrhose hépatique. Les études montrent que la présence d'une cirrhose hépatique augmente 42 fois le risque d'atteinte de MDR-TB [174] . **Toxicomanie** ; la toxicomanie est considérée comme un des facteurs de risque de MDR-TB au Royaume-Uni [168]. Le problème d'observance est posé chez les toxicomanes. Plusieurs auteurs

ont montré que la toxicomanie multiplie le risque de tuberculose multirésistante [175–176–177] . **Antécédents d'emprisonnement** ; la surpopulation au niveau des prisons et le fait que le personnel de santé de prisons n'est pas bien formé pour le dépistage et la prise en charge de la tuberculose favorisent l'émergence de la MDR-TB dans les prisons [178] . Ainsi que les services médicaux des prisons ne sont pas adéquatement supervisés par le programme et qu'il n'existe pas un bon système de coordination entre les services médicaux des prisons et le programme national de lutte contre la tuberculose pour un bon suivi des malades après leur sortie de prison [178] . Ces facteurs favorisent l'émergence de la MDR-TB dans les prisons. Pour ces facteurs, les prisons sont identifiées comme étant vecteur de la TB facilitant la sélection de la MDR-TB [179] . **Antécédents de séjour à l'étranger** ; le voyage dans des pays endémiques peut être une cause d'attribution de tuberculose MDR **Origine étrangère** ; l'immigration est un facteur expliquant l'augmentation de la prévalence de la MDR-TB en Europe [180]. **Diabète** ; le diabète est un facteur de risque de la réactivation de la TB. Les diabétiques ont plus de risque d'atteindre des épisodes graves de TB favorisant ainsi la sélection des mutants résistants [181] . **Troubles digestifs** ; les troubles digestifs comme la diarrhée chronique , l'accélération du transit et les vomissements aboutissent à une malabsorption des médicaments au niveau intestinal. Cette malabsorption peut entraîner de faibles taux de médicaments principalement l'INH et la RIF [182,183] . **Maladies respiratoires chroniques** ; comme étant un des facteurs de risque de tuberculose MDR reste encore discutées .**Troubles psychologiques** ; Kimerling et al. définissent la présence d'un trouble psychologique comme étant un facteur de risque de l'atteinte d'une MDR-TB avec un *odd-ratio* de 2,6 [177] .**VIH** ; au niveau international, la pandémie d'infection à VIH est venue amplifier le phénomène de sélection de souches mutantes [184,185] . Une plus grande fréquence des cas de tuberculose multirésistante au cours de la séropositivité par le VIH est bien établie [186] . En effet, l'infection à VIH, comme la tuberculose, touche tout particulièrement des populations marginalisées, toxicomanes ou en situation de précarité, dont les individus sont à haut risque d'inobservance aux traitements [187] . **Contage tuberculeux** ; le risque d'infection est fortement corrélé au nombre et à la durée d'exposition et il est particulièrement élevé quand

le contagio est au niveau de la famille [188]. **Antécédents de prise d'antituberculeux** ; même guéri, un patient ayant pris des antituberculeux présente un risque de réactivation de bacille endogène [189]. La relation entre le traitement antérieur et l'acquisition d'une résistance est illustrée dans la littérature.

12.3 .Mécanismes de la résistance aux médicaments antituberculeux

a) Résistances naturelles.

Les résistances naturelles des mycobactéries sont nombreuses [190] .Elles sont expliquées par le bas niveau de perméabilité de la paroi mycobactérienne [191] . Cette barrière physique permet à *M.tuberculosis* une résistance naturelle aux β -lactamines, macrolides, cyclines, sulfamides et aux glycopeptides [192]. La production de β -lactamase [193] , ou d'aminoglycoside 2'-N-acetyltransferase [194] ont aminoglycosides. également été décrites comme mécanismes de résistance primaire aux β -lactamines et aminoglycosides.

b) Résistances acquises primaires et secondaires

La résistance primaire est définie par le diagnostic d'une résistance acquise du bacille chez un patient n'ayant jamais été exposé à un traitement antituberculeux. Il traduit l'infection par une population de bacilles déjà porteurs de la résistance. La résistance secondaire est quant à elle, définie par une acquisition de résistance chez un patient ayant été traité pendant au moins un mois par antituberculeux. En faite , on a fait de grands progrès dans la compréhension de la base moléculaire de l'action des médicaments et de la résistance chez *M. tuberculosis* .

- **Isoniazide**

L'INH est le médicament antituberculeux de première ligne le plus largement utilisé. Depuis sa découverte en 1952, l'INH a été la pierre angulaire de tous les régimes efficaces pour le traitement de la maladie TB et de l'infection latente. *M. tuberculosis* est très sensible à l'INH (concentration minimale inhibitrice [CMI] 0,02-0,2 $\mu\text{g/ml}$). L'INH n'est actif que sur les bacilles

tuberculeux en phase de multiplication et il n'est pas actif contre les bacilles qui ne se multiplient pas, ni non plus dans les conditions anaérobies. L'INH est un « prodrug » qui est activé par l'enzyme catalase–peroxydase (KatG) encodé par le gène *katG* [195] pour produire un ensemble de produits fortement réactifs qui attaquent alors de multiples cibles dans *M. tuberculosis*. [196] Les produits réactifs produits par l'activation de l'INH sous l'effet du KatG comportent à la fois des produits oxygénés réactifs comme le superoxyde, le peroxyde, le radical hydroxyl , [197] l'oxyde nitrique [198] et des produits organiques réactifs comme le radical ou l'anion isonicotinic–acyl [199,200] et certains produits électrophiles [201]. La cible primaire de l'inhibition de l'INH semble être l'enzyme InhA (réductase de la protéine de transport du groupe enoylacyl), impliquée dans l'élongation des acides gras lors de la synthèse de l'acide mycolique [202] . Le produit actif (le radical ou l'anion isonicotinic–acyl) provenant de l'activation de l'INH médiée par le KatG entre en réaction avec le NAD(H) (nicotinamide adénine dinucléotide) pour former un dérivé INH–NAD, et agresser alors l'InhA [199,200] . Une étude récente a démontré que les dérivés INH–NAD(P) réagissent avec d'autres cibles protéiques en plus de l'InhA , tel que le DfrA (une dihydrofolate réductase dépendant de NADPH impliquée dans la synthèse de l'ADN) [203] . Des études ultérieures sont nécessaires pour évaluer le rôle de ces cibles supposées dans l'activité de l'INH et la résistance.

La résistance à l'INH survient plus fréquemment que celles qui concernent la plupart des médicaments antituberculeux ; in vitro, sa fréquence est de 1 sur 10⁵⁻⁶ bacilles [204] . Les isolats cliniques de *M. tuberculosis* résistant à l'INH perdent souvent les enzymes catalase et peroxydase [205] codées par le *katG*, particulièrement dans les souches de résistance élevée (CMI > 5 µg/ml) [204] . Les souches à résistance peu élevée (CMI < 1 µg/ml) possèdent encore souvent l'activité catalasique . La mutation dans *katG* est le mécanisme principal de la résistance à l'INH [195 – 206] . La mutation S315T dans *katG* est la mutation la plus courante dans les souches résistantes à l'INH, et se rencontre dans 50% à 95% des isolats cliniques résistants à l'INH [196–206] . La résistance à l'INH peut également survenir par suite de mutations dans la région promoteur de l'opéron *mabA/inhA*, en provoquant une surexpression de l'InhA ou par

des mutations au niveau du site actif de l'InhA, en réduisant l'affinité de l'InhA pour le dérivé INH-NAD [199–202]. Les mutations dans *InhA* ou dans sa région promoteur sont habituellement associées avec une résistance de faible niveau (CMI = 0,2–1 µg/ml) et sont moins fréquentes que les mutations du *katG* [196–206]. Dans *M. tuberculosis* résistant à l'INH et présentant des mutations *inhA*, on pourrait trouver des mutations supplémentaires de *katG* qui conféreraient des niveaux plus élevés de résistance à l'INH [207]. Les mutations dans *inhA* ne se contentent pas de provoquer la résistance à l'INH, mais confèrent également une résistance croisée à l'égard du médicament structurellement proche, l'éthionamide (ETH) [202]. Dans les souches résistantes à l'INH et négatives pour KatG, les mutations dans la région promoteur de *ahpC*, codant une alkylhydroperoxyde réductase, entraînant une expression accrue de l'enzyme, ont été observées pour compenser la perte de la catalase–peroxydase dans de telles souches [208,209]. Une surexpression de AphC ne semble pas provoquer une résistance significative à l'INH [210].

Environ 10% à 25% des souches dont le niveau de résistance à l'INH est faible ne comportent de mutations ni dans *katG*, ni dans *inhA* ; [206] la résistance pourrait être liée à un ou à plusieurs nouveaux mécanismes de résistance. On a démontré récemment que des mutations dans *mshA*, qui code une enzyme impliquée dans la biosynthèse du mycothiol, pourraient conférer une résistance à l'INH et à l'ETH dans les souches de *M. tuberculosis* in vitro, [211] mais leur rôle dans la résistance clinique reste à démontrer.

- **Rifampicine**

La RIF est un médicament de première ligne important pour le traitement de la TB. La RIF est bactéricide pour *M. tuberculosis*, et ses CMI vont de 0,05 à 1 µg/ml dans les milieux solides ou liquides, mais la CMI est plus élevée dans les milieux contenant des oeufs (CMI = 2,5–10 µg/ml). On considère comme sensibles à la RIF les souches dont les CMI sont <1 µg/ml en milieu liquide ou en milieu agar ou dont les CMI sont < 40 µg/ml dans le milieu de Löwenstein – Jensen (LJ). La RIF est active à la fois contre les bacilles en phase de multiplication et ceux en

phase stationnaire (dont l'activité métabolique est faible). Ce dernier type d'action est lié à sa puissante activité stérilisante in vivo qui va de pair avec sa capacité de raccourcir le traitement de la TB de 12- 18 mois à 9 mois [212] .

La RIF interfère avec la synthèse d'ARN en se liant à la sous-unité β de l'ARN polymérase. L'ARN polymérase est un oligomère consistant en un noyau enzymatique formé par quatre chaînes $\alpha 2\beta\beta'$ en association avec une sous-unité σ qui stimule spécifiquement la transcription à partir des promoteurs. Le site de liaison de la RIF est situé en amont du centre catalytique et bloque physiquement l'élongation de la chaîne de l'ARN. Pour *M. tuberculosis*, la résistance à la RIF survient à une fréquence de 10^{-7} à 10^{-8} . Comme pour d'autres bactéries, les mutations dans une région définie de la région de la paire de base (bp) 81 de *rpoB* sont observées dans environ 96% des isolats de *M. tuberculosis* résistants à la RMP [213] .

Les mutations dans les positions 531, 526, et 516 sont parmi les mutations les plus fréquentes observées dans les souches résistantes à la RIF . Les mutations dans *rpoB* entraînent généralement une résistance de haut niveau (CMI > 32 $\mu\text{g/ml}$) ainsi qu'une résistance croisée avec toutes les rifamycines . Toutefois, les mutations spécifiques dans les codons 511, 516, 518 et 522 sont en association avec un faible niveau de résistance à la RIF et à la rifapentine, mais maintiennent une sensibilité à l'égard de la rifabutine et du rifalazil [214,215]

Une observation intrigante et potentiellement préoccupante est l'existence de souches de *M. tuberculosis* dépendantes de la RIF dans les contextes cliniques [216,217] . Ces souches connaissent une croissance médiocre dans un milieu à base d'œufs , mais se développent mieux en présence de RIF . Les souches dépendantes de la RIF sont d'une certaine manière similaires aux bactéries de forme-L. A proprement parler, ces souches ne sont pas dépendantes de la RIF puisqu'elles pourraient encore se développer médiocrement en l'absence de RIF . Il s'agit d'une situation différente de celle des souches strictement dépendantes de la SM, qui se développent exclusivement en présence de ce médicament. Les souches dépendantes de la RIF n'ont pas été souvent signalées, probablement parce que dans la pratique, les techniques courantes de

diagnostic recourent uniquement à des milieux sans médicaments. Il y a dans ces souches des mutations communes mais aussi complémentaires de *rpoB* (B. Zhu, M. Zhong et Y. Zhang, observations non publiées). Les circonstances dans lesquelles les souches dépendantes de la RIF surviennent restent encore mal définies, mais elles apparaissent souvent comme une TB-MDR et semblent se développer en présence de traitements répétés avec des rifamycines chez des patients en retraitement. L'usage continu de rifamycines pour le traitement de patients porteurs de souches dépendant de la RIF peut aggraver la maladie (M. Zhong et Y. Zhang, observations non publiées). Il serait intéressant de déterminer le mécanisme de la dépendance à la RIF et d'évaluer le rôle de telles souches dans les échecs du traitement.

- **Pyrazinamide**

Le PZA est un médicament de première ligne important, utilisé en même temps que l'INH et la RMP. Le PZA joue un rôle unique dans le raccourcissement du traitement de la TB depuis la durée antérieure de 9 à 12 mois vers 6 mois, car il détruit une population de bacilles « persistants » dans l'environnement à pH acide des lésions, population qui n'est pas détruite par les autres médicaments [212].

Le PZA est un médicament antituberculeux non conventionnel et paradoxal qui a une activité stérilisante élevée *in vivo*, mais qui n'est pas actif contre les bacilles tuberculeux dans les conditions normales de culture proches d'un pH neutre [218]. Le PZA n'est actif contre *M. tuberculosis* qu'à un pH acide (par ex. 5,5) [219].

Même au pH acide de 5,5, l'activité du PZA est très médiocre puisque les CMI se situent dans la fourchette de 6,25 à 50 µg/ml [220]. L'activité du PZA est renforcée dans des conditions de faible oxygénation ou d'anaérobiose [221] et par les agents qui compromettent le statut énergétique des membranes, comme les acides faibles [222] et les inhibiteurs d'énergie comme le DCCD (dicyclohexylcarbodiimide), l'azide et le roténone [223].

Le PZA est un « prodrug » qui doit être transformé dans sa forme active, l'acide pyrazinoïque (POA), par l'enzyme pyrazinamidase/nicotinamidase codé par le gène *pncA* de *M. tuberculosis* [224] . Le POA produit au niveau intracellulaire atteint la surface cellulaire par diffusion passive et par l'efficacité de l'efflux [225]. Le pH acide extracellulaire facilite la formation de POA protonaté et non-ionisé qui va permettre sa pénétration par la membrane et provoquer l'accumulation de POA et détruire ainsi le potentiel de membrane de *M. tuberculosis* [223]. Le POA protonaté amène les protons dans la cellule et pourrait éventuellement provoquer une acidification du cytoplasme et supprimer l'énergie de membrane en effondrant la force motrice du proton, ce qui affecte le transport de membrane [223] . La cible du PZA est en rapport avec le métabolisme énergétique de la membrane, [223] bien qu'il faille encore identifier sa cible spécifique. On a proposé Fas-I comme une cible pour le PZA, [226] mais cette observation est remise en question [227] . On peut trouver plus de détails concernant le PZA dans la revue par Zhang et Mitchison [228] . Les souches de *M. tuberculosis* résistantes au PZA perdent leur activité pyrazinamidase/nicotinamidase [229] . Nous avons cloné le *pncA* de *M. tuberculosis* et démontré que la déficience d'activité de la pyrazinamidase due aux mutations de *pncA* est la cause principale de la résistance au PZA [224-230,231] . Nos observations ont été confirmées ultérieurement par diverses autres études [232,233,234]. Les mutations de *pncA* sont très variées et dispersées tout au long du gène, ce qui est spécifique à la résistance au PZA. En dépit de la distribution très variée et dispersée des mutations de *pncA*, elles sont quelque peu regroupées dans trois régions du PncA, 3-17, 61-85 et 132-142 [230-235]. La plupart des souches de *M. tuberculosis* résistantes au PZA (72-97%) comportent des mutations de *pncA* ; [232-230-236] toutefois, certaines souches résistantes ne comportent pas de mutation de *pncA*. Une forme de ces souches est pyrazinamidase négative, et comporte un niveau élevé de résistance,[231-235-237] ce qui pourrait être dû à des mutations

dans un gène régulateur non défini de *pncA* . Une autre forme de ces souches a un niveau faible de résistance (CMI = 200-300 µg/ml, avec un seuil de résistance de 100 µg/ml de PZA) et une activité pyrazinamidase positive sans mutations de *pncA* ; le mécanisme de résistance de ces

souches reste à préciser. Le pourcentage plus faible de souches résistantes au PZA comportant des mutations de *pncA* (par exemple 72%) [233] signalé dans plusieurs études pourrait être dû à une fausse résistance due au problème bien connu de détermination de la sensibilité au PZA [228].

Le PZA n'est actif que contre les organismes du complexe *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. africanum* et *M. microti*), mais non contre *M. bovis* en raison d'une mutation caractéristique dans son gène *pncA*.⁶⁶ Des souches de *M. bovis*, y compris le bacille de Calmette et Guérin (BCG), sont naturellement résistantes au PZA et n'ont pas de pyrazinamidase ; ces caractéristiques sont habituellement utilisées pour distinguer *M. bovis* de *M. tuberculosis*. La résistance naturelle de *M. bovis* et du BCG à l'égard du PZA est due à une mutation à point unique de « C » vers « G » à la position 169 du nucléotide (nucléotide 169) du gène *pncA* par comparaison avec la séquence *pncA* de *M. tuberculosis*, ce qui cause une substitution des acides aminés en position 57 de la séquence PncA [224].

Toutefois, la corrélation entre l'activité de la pyrazinamidase et la sensibilité au PZA n'est pas vraie pour d'autres espèces mycobactériennes naturellement résistantes au PZA dont la résistance intrinsèque au PZA est le plus probablement attribuable à l'activité intense de leur mécanisme d'efflux du POA [225] .

- **Ethambutol**

L'EMB [(*S,S'*)-2,2'(éthylènediimino)di-1-butanol] est un médicament de première ligne qui est utilisé en combinaison avec l'INH, la RMP et le PZA pour prévenir l'apparition de la résistance aux médicaments. Les CMI de l'EMB pour *M. tuberculosis* sont de l'ordre de 0,5 à 2 µg/ml. L'EMB est un agent bactériostatique actif sur les bacilles au stade de multiplication et inefficace sur les bacilles « dormants ». L'EMB interfère avec la biosynthèse de l'arabinogalactan de la paroi cellulaire [238] . Il inhibe la polymérisation de l'arabinan, de l'arabinogalactan et du lipoarabinomannan de la paroi cellulaire et induit l'accumulation de D-arabinofuranosyl-P-

decaprenol , un intermédiaire dans la biosynthèse de l'arabinan [239,240]. L'arabinosyl transférase, codée par *embB*, est une enzyme impliquée dans la synthèse de l'arabinogalactan, qui a été présentée comme la cible de l'EMB chez *M. tuberculosis* [241] et *M. avium* [242] Chez *M. tuberculosis*, *embB* est organisé dans un opéron avec *embC* et *embA* dans l'ordre suivant : *embCAB*, *embC*, *embB* et *embA*, qui partagent entre eux plus de 65% de l'identité des acides aminés et sont supposés coder les protéines transmembranaires [241]

Les CMI des souches résistantes à l'EMB sont supérieures à 7,5 µg/ml.⁸⁶ La mutation vers la résistance à l'EMB survient à une fréquence de 10⁻⁵. Les mutations dans l'opéron *embCAB*, en particulier *embB*, et occasionnellement *embC*, sont responsables de la résistance à l'EMB [241] La mutation du codon 306 d'*embB* est la plus fréquente dans les isolats cliniques résistants à l'EMB, expliquant jusqu'à 68% des souches résistantes [243,244] . Certaines observations contradictoires ont suggéré que la mutation d'*embB*306 n'est pas impliqué dans la résistance à l'EMB, [245,246] mais est par contre associée au développement de la résistance à l'égard d'autres médicaments, y compris dans les cas de TB-MDR [247,248,249] . Cette discordance a été récemment résolue par une évaluation soigneuse du rôle des mutations individuelles provoquant différentes substitutions d'acides aminés dans la résistance à l'EMB grâce à l'emploi d'une mutagenèse dirigée sur les sites et d'échanges d'allèles chez *M. tuberculosis* [250]. On a trouvé que les mutations entraînant des modifications de certains acides aminés sont en effet la cause de la résistance à l'EMB, alors que d'autres substitutions d'acides aminés n'ont que peu d'effets sur la résistance à l'EMB. [250] Toutefois, environ 35% des souches résistantes à l'EMB (CMI < 10 µg/ml) ne comportent pas de mutations *embB*, [251] ce qui suggère que d'autres mécanismes de résistance à l'EMB pourraient exister. Des études ultérieures s'imposent pour identifier ces nouveaux mécanismes potentiels de résistance à l'égard de l'EMB.

- **Aminoglycosides(streptomycine,kanamycine/amikacine/capréomycine)**

La SM est un antibiotique du type aminoglycoside actif contre toute une série d'espèces bactériennes, y compris *M. tuberculosis*. La SM détruit activement les bacilles en multiplication à des CMI de 2 à 4 µg/ml, [252] mais est inactive contre les bacilles « dormants » ou intracellulaires [212] . La SM inhibe la synthèse protéique en se liant à la sous-unité 30S du ribosome bactérien, ce qui entraîne une lecture erronée du message de la mARN au cours de la translation [253] . Les sites d'action de la SM sont la sous-unité 30S du ribosome au niveau de la protéine ribosomiale S12 ainsi que le 16S rARN. La résistance à la SM est provoquée par des mutations dans la protéine S12 encodée par le gène *rpsL* et dans le 16S rARN encodé par le gène *rrs* [254] . Les mutations de *rpsL* et de *rrs* sont les mécanismes principaux de la résistance à la SM, [254,255] rendant compte respectivement de 50% et de 20% des souches résistantes à la SM [254,255]. La mutation la plus courante dans *rpsL* est une substitution dans le codon 43 de la lysine en arginine, [254,255] ce qui cause une résistance de haut niveau à l'égard de la SM. La mutation dans le codon 88 est également courante [254,255] . Des mutations du gène *rrs* surviennent dans les boucles du 16S rARN et sont regroupées en grappes dans deux régions autour des nucléotides 530 et 915 [254,255] . Les souches de *M. tuberculosis* SM-dépendantes et SM résistantes semblent causées par une insertion « C » dans la boucle 530.100 . Toutefois, environ 20% à 30% des souches résistantes à la SM et dont le niveau de résistance est faible (CMI < 32 µg/ml) ne comportent pas de mutations dans *rpsL* ou *rrs*, [256] ce qui suggère la présence d'un ou de plusieurs autres mécanismes de résistance. Récemment, on a noté qu'une mutation dans *gidB*, codant une 7-méthylguanosine (m(7)G) méthyltransférase conservée spécifique pour 16S rARN, a été la cause d'une résistance de faible niveau à la SM dans 33% des isolats résistants de *M. tuberculosis* [257] . Une étude subséquente a montré qu'alors que la modification de L16R est un polymorphisme non impliqué dans la résistance à la SM, d'autres mutations dans *gidB* semblent être impliquées dans la résistance de faible niveau à la SM [258] . En outre, certaines résistances de faible niveau à la SM semblent causées par un efflux accru puisque les inhibiteurs

de la pompe à efflux ont provoqué une sensibilité accrue à l'égard de la SM ; toutefois le mécanisme exact reste à identifier [258] .

La kanamycine (KM) et son dérivé l'amikacine (AMK) sont également des inhibiteurs de la synthèse protéique qui modifient la structure ribosomiale au niveau de la 16S rARN [259,260] . Les mutations en position 1400 de 16S rARN (*rrs*) sont en association avec une résistance de haut niveau à l'égard de la KM et de l'AMK [259,260] . La CPM est un antibiotique du type polypeptide. Il a été démontré qu'un gène appelé *thyA* codant la méthyltransférase de rARN est impliqué dans la résistance à la CPM [261]. La méthyltransférase de rARN modifie le nucléotide C1409 dans l'hélice 44 de 16S rARN et la nucléotide C1920 dans l'hélice 69 de 23S rARN. Divers types de résistance croisée peuvent s'observer entre KM, AMK, CPM ou viomycine (VM) [204] . Les mutants résistants à la CPM et à la VM pourraient être porteurs des mutations *thyA*, C1402T, ou G1484T *rrs*, alors qu'une mutation A1401G *rrs* existerait dans les mutants résistants à la CPM mais non à la VM [262] . Une mutation A1401G pourraient provoquer une résistance à la KM et à la CPM mais non à la VM [262] Dans les mutants résistants à la CPM, KM et VM, il pourrait y avoir dans le gène *rrs* soit une mutation C1402T, soit une mutation G1484T [262] . Des mutations multiples peuvent survenir dans le gène *rrs* dans une seule souche, ce qui lui conférerait une résistance croisée pour ces divers agents [262] . Les souches résistantes à la SM sont habituellement encore sensibles à la KM et à l'AMK.

- **Fluoroquinolones**

Les ADN topoisomérases sont un ensemble varié d'enzymes essentielles responsables du maintien des chromosomes dans un état topologique approprié.

Dans la cellule, les topoisomérases règlent un surenroulement de l'ADN et délient les cordons d'acide nucléique entrelacés pour répondre aux besoins de réplication et de transcription [263]. Dans la plupart des espèces bactériennes, les fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase (topoisomérase II) et la topoisomérase IV, ce qui entraîne la mort microbienne.

L'ADN gyrase est une protéine tétramérique A₂B₂. La sous-unité A est porteuse du site actif rupture-réunion, alors que la sous-unité B promeut l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate.

Dans *M. tuberculosis*, *gyrA* et *gyrB* encodent les sous-unités A et B [264]. Il a été démontré qu'une région préservée, la région déterminant la résistance à la quinolone (QRDR) de *gyrA* (320 bp) et de *gyrB* (375 bp), est la zone la plus importante impliquée dans l'apparition de la résistance aux FQ chez *M. tuberculosis* [264]. On a identifié des mutations au sein du QRDR de *gyrA* dans des isolats de *M. tuberculosis* cliniques ou sélectionnés au laboratoire, mutations largement regroupées au niveau des codons 90, 91, 94, [264,265] où Asp94 est relativement fréquent [266,267].

D'autres isolats importants impliqués incluent également les codons 74, 83 et 87 [268,267-269]. La mutation au niveau du codon 95 est considérée comme un polymorphisme non impliqué dans la résistance aux quinolones [270]. Un codon moins fréquemment impliqué est le codon 88 [271]. Les mutations *gyrB* apparaissent bien plus rarement dans les isolats cliniques [272-265-273]. Généralement, deux mutations dans *gyrA* ou des mutations concomitantes dans *gyrA* plus *gyrB* sont indispensables pour qu'apparaissent des niveaux plus élevés de résistance [264-274]. Il a également été démontré que la fréquence des mutations entraînant une résistance de *M. tuberculosis* aux FQ ainsi que la répartition des allèles de résistance sélectionnés pourraient dépendre de la concentration de FQ [275]. Une sélection par de faibles concentrations de FQ produit des mutants dont le niveau de résistance est faible. Aucun d'entre eux ne contient des mutations dans QRDR de *gyrA*, la principale cible du médicament. Toutefois, avec l'accroissement de la pression de sélection, les diverses altérations de *gyrA* deviennent prévalentes. Des concentrations élevées de FQ ont réduit cette diversité à un petit nombre de types, et éventuellement une concentration a été observée, au niveau de laquelle on ne retrouve aucun mutant : c'est ce qu'on appelle la concentration de prévention de la mutation [275]. Il est extrêmement intéressant de noter le pourcentage d'isolats cliniques de *M. tuberculosis* résistants aux FQ chez qui des mutations *gyr* sont discernables ; celui-ci varie

considérablement d'une étude à l'autre : <50% dans certaines d'entre elles, avec une valeur extrême de 2% [270] et \geq 50% dans beaucoup d'autres, [272–267–269–276,277] avec une valeur extrême approchant 100% [267,275] . Des explications possibles de la variance observée pourraient inclure :

- 1) des différences dans la méthode utilisée pour la détection moléculaire, [264–277] particulièrement en ce qui concerne l'étendue de couverture du génome soit QRDR ou plus loin dans *gyrA*, soit aussi pour *gyrB* ;
- 2) la définition de la résistance de *M. tuberculosis* aux FQ (CMI de l'ofloxacine $>$ ou $=$ 2 $\mu\text{g/ml}$ vs. $>$ ou $=$ 4 $\mu\text{g/ml}$) (certaines souches à faible niveau de résistance aux quinolones peuvent être faussement résistantes) ; [268–266]
- 3) peut être d'autres mécanismes sous-jacents responsables de la résistance mycobactérienne aux FQ, comme la diminution de la perméabilité de la paroi cellulaire pour le médicament, la pompe à efflux du médicament, la séquestration du médicament et peut-être même l'inactivation du médicament [263] . Récemment, on a identifié un nouveau mécanisme de résistance à la quinolone, médié par MfpA [278] MfpA est un membre de la famille pentapeptide répétitive des protéines provenant de *M. tuberculosis* dont l'expression provoque une résistance à l'égard des fluoroquinolones. MfpA se lie à l'ADN gyrase et inhibe son activité sous forme d'un mimétisme de l'ADN, qui explique son effet inhibiteur sur l'ADN gyrase ainsi que la résistance aux quinolones [278] . L'opéron *Rv286c-Rv2687c-Rv2688c* de *M. tuberculosis* qui code un transporteur de cassette de liaison de l'ATP s'est avéré conférer la résistance à la ciprofloxacine et, à un moindre degré à la norfloxacine, à la moxifloxacine et à la sparfloxacine chez *M. smegmatis* [279] . On a trouvé que le niveau de résistance diminue en présence d'inhibiteurs de la pompe d'efflux comme la réserpine et le vérapamil. Toutefois, il reste à déterminer si les souches cliniques élaborent MfpA ou l'opéron *Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c* pour développer la résistance clinique à l'égard des quinolones. Les mécanismes alternatifs pouvant rendre compte d'une résistance de *M. tuberculosis* aux

FQ sont probablement en association avec de plus faibles niveaux de résistance, à l'opposé de ceux dus aux mutations de *gyr* [266] . Toutefois, lorsque ces mécanismes alternatifs coexistent avec des mutations de *gyr*, on peut s'attendre à ce que la résistance qui apparaît soit considérable.

De plus, il a été suggéré que les mutations génétiques sous-jacentes à la résistance de *M. tuberculosis* aux FQ peuvent être substantiellement différentes en fonction des régions géographiques [265] .

- **Ethionamide/prothionamide et thioamides**

L'ETH (2-ethylisonicotinamide) est un dérivé de l'acide isonicotinique ; il est bactéricide uniquement contre *M. tuberculosis*, *M. avium-intracellulare* et *M. leprae*. Les CMI de l'ETH pour *M. tuberculosis* sont de 0,5 à 2 µg/ml en milieu liquide, de 2,5 à 10 µg/ml dans l'agar 7H11 et de 5 à 20 µg/ml dans le milieu de LJ. Comme l'INH, l'ETH est également « prodrug » activé par EtaA/EthA (une monooxygénase), [280,281] et il inhibe la même cible que l'INH, c'est à dire l'InhA des voies de synthèse de l'acide mycolique [202] . Le prothionamide (PTH, 2-éthyl-4-pyridinecarbothioamide) partage une structure et une activité quasi identiques à celles de l'ETH. EtaA ou EthA est une flavine adénosine dinucléotide (FAD) contenant une enzyme qui oxyde l'ETH en un S-oxyde correspondant qui est à son tour oxydé en 2-éthyl-4-amidopyridine, probablement via un intermédiaire instable d'acide sulfinique oxydé [282] . L'EtaA active également la thiacétazone, le thiocarlide, la thiobenzamide et peut être d'autres médicaments de la classe des thioamides, [282] ce qui explique la résistance croisée entre l'ETH et la thiacétazone, le thiocarlide et d'autres thioamides et thiourées [283]. Les mutations dans l'enzyme EtaA/EthA activatrice du médicament [280,281] provoquent une résistance à l'ETH et à d'autres thioamides . En outre, les mutations dans la cible InhA confèrent une résistance à la fois à l'ETH et à l'INH.

12.4 Diagnostic de la tuberculose multirésistante

Le diagnostic définitif de la tuberculose multirésistante repose sur l'identification de *M. tuberculosis* en culture et la démonstration de la résistance du bacille à l'isoniazide et à la rifampicine. Il faut recueillir au moins deux échantillons d'expectorations produites à 24 heures d'intervalle. D'autres prélèvements peuvent être analysés en cas de tuberculose extrapulmonaire (ganglions, liquide pleural, urines..).Le principal usage de la microscopie se limite à l'évaluation de la contagiosité initiale du patient. La culture est un examen important, elle contribue au diagnostic positif de la tuberculose en identifiant *M. tuberculosis* et à la surveillance de l'évolution des malades sous traitement . Elle doit être entreprise dans des laboratoires agréés . L'identification de *M. tuberculosis* est indispensable car si dans les pays où la prévalence de la tuberculose est importante, la grande majorité des isolats mycobactériens appartient à l'espèce *M. tuberculosis*, dans d'autres pays à forte prévalence d'infection par le VIH, la prévalence des infections à mycobactéries non tuberculeuses (MNT) peut être plus élevée surtout chez les patients déjà contaminés par le VIH. Les MNT étant souvent résistantes à de nombreux antituberculeux, il convient ainsi de confirmer l'identification de *M. tuberculosis* devant tout cas de pharmacorésistance avant la prescription d'un traitement de 2^e ligne [284,285] . Le diagnostic de la résistance est finalement confirmé par les tests de sensibilité effectués à partir des cultures qui imposent un délai d'attente qui varie de 10 à 15 jours (milieu liquide) jusqu'à 12 semaines (milieu solide) . Les méthodes moléculaires, qui se sont développées ces dernières années, permettent en revanche d'avoir un résultat en quelques heures assurant ainsi une détection précoce et fiable de la multirésistance [286,287] . Ces méthodes permettent de détecter des mutations au niveau des gènes impliqués dans la résistance aux principaux antituberculeux. En pratique, la détection moléculaire de la résistance à la rifampicine est utilisée pour la recherche des souches multirésistantes , cette résistance étant généralement associée à celle de l'isoniazide dans de nombreux pays où la monorésistance à la rifampicine reste rare [286,287] . De plus, cette détection repose sur l'étude d'un fragment du gène *rpoB* où sont localisées les mutations chez près de 95 % des souches rifampicine résistantes. Pour les souches

multirésistantes, la détection génotypique de la résistance aux fluoroquinolones est possible (gène *gyrA* et *gyrB*). Actuellement, les tests commercialisés s'appuient sur deux approches distinctes associant l'identification de l'espèce *M. tuberculosis* complexe et la détermination de la résistance à la rifampicine et/ou à l'isoniazide. La première approche utilise une technique d'amplification génique suivie d'une hybridation inverse (Line Probe Assay : Inno-LIPARIF-TB, Genotype MTBDR plus) et la seconde utilise le principe de la *polymerase chain reaction* (PCR) en temps réel (Gene Xpert MTB/RIF). Le Gene Xpert MTB/RIF est un test de diagnostic moléculaire entièrement automatisé. Il détecte simultanément le complexe *tuberculosis* et la résistance à la rifampicine et fournit des résultats précis en moins de deux heures permettant d'instaurer le même jour un traitement approprié au patient [286,287]. Boehme et al. [286], dans une étude multicentrique menée en Afrique du Sud, en Azerbaïdjan, en Inde et au Pérou, ont montré que l'utilisation des tests génétiques rapides a permis de détecter en quelques heures les mycobactéries et leur résistance à la rifampicine dans un grand nombre d'échantillons d'expectorations même quand la microscopie était négative. À ce titre, le test Gene Xpert MTB/RIF est fortement recommandé par l'OMS comme test de diagnostic initial chez les patients suspects de TB-MR [288,289]. Si le test révèle une tuberculose multirésistante, il est recommandé de commencer le traitement en attendant le résultat complet de l'antibiogramme conventionnel toujours considéré comme la norme de référence pour confirmer la résistance [290]. En plus de la multirésistance et de l'ultrarésistance, deux autres types de résistance ont été récemment définis :

- la résistance à la rifampicine (TB-RR) : résistance à la rifampicine détectée par les méthodes phénotypiques ou génotypiques, avec ou sans résistance à d'autres médicaments antituberculeux. Elle inclut toute résistance à la rifampicine, à savoir monorésistance, multirésistance, polyrésistance ou ultrarésistance [291] ;

- la tuberculose extrêmement résistante ou totalement résistante (TB-ER, TDR ou XXDR-TB), de description récente, est définie par une résistance à tous les médicaments antituberculeux de première et de seconde ligne [292,293].

12.5 Traitement de la tuberculose résistante

a) Traitement de la tuberculose multirésistante

Le traitement de la tuberculose multirésistante se base actuellement sur les recommandations des experts de l'OMS [284,285,294]. La prise en charge médicale et psychosociale des patients tuberculeux doit se faire, dans tous les cas, dans des services spécialisés [295]. Le schéma thérapeutique proposé actuellement repose sur l'association de cinq médicaments sélectionnés parmi les médicaments potentiellement efficaces. De nouveaux médicaments, tels que la bédaquiline (déjà utilisée) ou d'autres, actuellement à l'étude, comprennent les aminoglycosides inhalés, les oxazolidinones (linézolide), les nitroimidazopyranes (PA-824) et l'inhalation d'interféron gamma. Les résultats de ces traitements (notamment le PA-824) semblent être très prometteurs [296]. Le traitement de la tuberculose multirésistante n'est pas standardisé, chaque pays devrait concevoir une stratégie thérapeutique appropriée en fonction des données disponibles de la surveillance de la pharmacorésistance et de la fréquence de l'utilisation des antituberculeux dans le pays [284-294]. Cependant, le traitement doit répondre à certaines règles générales en particulier l'utilisation d'un agent injectable et d'une fluoroquinolone qui constituent la base du schéma thérapeutique [297]. Le schéma thérapeutique va dépendre dans tous les cas des antécédents de tuberculose des patients, pour les nouveaux cas de TB-MR, le traitement comprendra deux phases :

- une phase d'attaque utilisant cinq médicaments (pyrazinamide, amikacine, lévofloxacine, cyclosérine et éthionamide) associées à la vitamine B6 pour prévenir les effets indésirables sur le système nerveux central (troubles neurologiques et psychiatriques). La durée de cette phase est de huit mois et d'au moins quatre mois après la conversion de la culture [284-291];

- une phase d'entretien où seul l'agent injectable est arrêté. Pour les cas de TB-MR déjà traités par des médicaments de seconde ligne ou s'il existe une résistance et/ou une exposition

antérieure à l'antibiotique injectable, le PAS et la capréomycine seront utilisés. La durée minimale du traitement est de 18 mois après la conversion de la culture, soit une durée totale de 20 mois en moyenne [284–294]. L'évolution de la tuberculose multirésistante traitée est moins favorable que celle de la tuberculose à germe sensible et dépend en grande partie de la durée du traitement et de la qualité du suivi et de la prise en charge. Chan et al. [298] en 2004, ont rapporté les résultats du traitement de 205 patients atteints de tuberculose multirésistante pris en charge dans un grand centre nord américain. Le taux de mortalité spécifique était de 12 %, le taux de guérison de 75 % avec une durée moyenne d'hospitalisation de 3 mois. Dans une méta-analyse récente, menée par Orenstein et al. [299] en 2009 et incluant 34 publications totalisant 8500 patients, le taux de succès des antituberculeux seuls variait de 54 % à 64 % et était plus important lorsque le traitement a été suivi pendant 18 mois au moins et sous supervision directe de la prise médicamenteuse avec un taux de mortalité de 11 % [299]. Ces taux restent cependant largement inférieurs aux taux de succès habituellement observés dans le traitement de la tuberculose à germe sensible (85 %) lorsque le traitement est bien suivi [300]. Afin d'améliorer la compliance des malades et le taux de guérison et diminuer par conséquent le coût de la prise en charge de la tuberculose multirésistante, la tendance actuelle va vers le raccourcissement de la durée du traitement [294]. C'est ainsi qu'une étude récente, menée au Bangladesh entre 1997 et 2007, a montré qu'un régime court de neuf mois (associant éthambutol, pyrazinamide, gatifloxacine et clofazimine, avec en plus isoniazide à fortes doses, prothionamide et kanamycine pendant les quatre premiers mois) a permis d'obtenir la guérison chez 87,9 % des patients atteints de tuberculose multirésistante [300].

b) Traitement d'une résistance isolée à l'isoniazide

- **Résistance de bas niveau à l'INH**

La connaissance d'une résistance de bas niveau à l'INH, le plus souvent affirmée qu'après 1 ou 2 mois de traitement, ne conduit pas obligatoirement à remplacer l'isoniazide, mais si celle-ci est utilisée on vérifiera par dosages que l'on est bien dans la partie haute de la

fourchette de taux sériques. Dans les formes peu sévères et négatives à 2 mois, on peut donc laisser RH pendant les 4 mois de deuxième phase. Mitchinson [301] démontre l'efficacité de ce régime même en cas de résistance à l'isoniazide sous réserve d'une posologie de 5 mg/kg d'INH et d'évaluer l'isoniazidémie.

Dans les formes très bacillaires ou étendues, l'isoniazide sera maintenu mais dans la phase initiale : un autre antibiotique auquel la souche est sensible sera ajouté dans l'ordre suivant : quinolone, aminoside (2 mois), dès que l'on aura connaissance de la résistance, mais il n'y a pas d'étude validant cette attitudes de bon sens. La durée totale du traitement sera de 9 mois, la deuxième phase comportera au moins rifampicine + isoniazide et un autre antituberculeux (éthambutol, pyrazinamide ou moxifloxacine) auquel les bacilles sont sensibles.

- **Résistance de haut niveau à l'INH**

La connaissance initiale ou après quelques semaines de traitement d'une résistance de haut niveau rend inutile l'usage de l'INH.

Dans les formes peu bacillifères Mitchinson [301] propose après la phase initiale ne comprenant que rifampicine + pyrazinamide+ éthambutol comme médicaments actifs, d'entreprendre une deuxième phase de 7 mois par rifampicine + éthambutol.

Dans les formes bacillaires ou étendues, l'isoniazide doit être remplacé par un autre antituberculeux auquel la souche est sensible dans l'ordre suivant : quinolone [302] aminoside [303] (2 mois), éthionamide. Comme dans tous les cas ou le traitement antituberculeux ne comprend pas initialement isoniazide + rifampicine + pyrazinamide, la durée totale du traitement antituberculeux sera de 9 mois. La phase de continuation pouvant, dans les formes peu sévères et bactériologiquement négatives à 2 mois ne comporter que rifampicine + éthambutol [302] .

c) **Traitement d'une résistance isolée à la rifampicine**

De rares souches de bacilles résistants à la rifampicine restent *in vitro* apparemment sensibles à la rifabutine, mais il ne s'agit que d'un artefact et celle-ci ne doit malgré tout pas être employée dans cette situation [304] . La rifabutine n'ajoute d'ailleurs non plus rien à l'activité de la rifampicine dans les cas de souche sensibles [305] . Dans cette situation de monorésistance à la rifampicine, l'*American Thoracic Society* (ATS) recommande isoniazide + pyrazinamide + éthambutol + quinolone ± amikacine 2 mois puis isoniazide + pyrazinamide + éthambutol + quinolone 7 à 10 mois [302] . L'efficacité des nouvelles quinolones doit permettre de simplifier ce traitement en associant isoniazide + pyrazinamide + éthambutol + moxifloxacine durant la phase initiale suivi d'une phase de continuation avec isoniazide + moxifloxacine de 7 à 10 mois.

d) **Prise en charge des contacts de tuberculose multirésistante**

Les contacts de cas de tuberculose multirésistante peuvent ne pas avoir été contaminés par la même souche, certains d'entre eux pouvant être infectés par des souches sensibles à l'isoniazide . Dans une étude récente [306] , menée auprès de 704 contacts de patients atteints de tuberculose multirésistante, le dépistage initial a permis d'identifier 12 cas (1,7 %) de tuberculose et 17 cas (2,4 %) ont développé, dans les deux années suivantes, une tuberculose active avec respectivement dans 8 cas (sur 12) et 3 cas (sur 17) une tuberculose multirésistante. Les sujets contacts ne font donc pas nécessairement une tuberculose multirésistante. Les facteurs de risque de développer une tuberculose multirésistante et à prendre en considération sont :

- la contagiosité du cas index : les cas de TB-MR qui toussent et dont les frottis d'expectoration sont positifs sont nettement plus contagieux ;

- la proximité et intensité de l'exposition à la TB-MR : les personnes qui respirent le même air qu'un cas de TB-MR pendant de longues périodes (membre de la famille, compagnon de chambre d'hôpital, milieu carcéral) ont plus de risques d'être infectées ;
- l'exposition lors de procédures d'induction de la toux (expectoration induite, bronchoscopie) peut fortement accroître le risque de transmission ;
- le principal facteur de risque reste l'immunodépression (VIH, malnutrition, diabète, affections rénales, affections hématologiques, immunodépresseurs, corticoïdes, chimiothérapie, radiothérapie. . .). Si le contact est atteint de tuberculose active, il faut demander rapidement des cultures et un test de sensibilité en se basant sur les tests de diagnostic rapide (culture sur milieu liquide et Gene Xpert MTB/MR). En attendant les résultats, un traitement empirique de la tuberculose multirésistante, fondé sur le profil de résistance du cas index (porteur de TB-MR), est administré. Si l'examen du contact adulte symptomatique ne fournit aucun indice clinique ou radiologique évocateur de tuberculose et que les bacilloscopies sont négatives, un antibiotique à large spectre (sans effet sur le BK) est utilisé. Si les symptômes persistent, une tomodensitométrie du thorax et une fibroscopie bronchique avec lavage broncho-alvéolaire dirigé suivie d'un examen des frottis et d'une mise en culture seront pratiqués. Si ces prélèvements sont négatifs et que les symptômes persistent, il faut surveiller de près la personne contact avec réalisation au besoin des frottis et des cultures ainsi qu'une radiographie du thorax si nécessaire [307,308]. Chez les enfants contacts présentant une tuberculose active, la multirésistance est suspectée lorsque l'enfant est en contact d'un cas confirmé de TB-MR ou d'un patient tuberculeux décédé en cours de traitement (avec notion de mauvaise observance du traitement ou de plus de deux traitements antituberculeux suivis) ou encore lorsque l'enfant présente une tuberculose confirmée, mais qui ne répond pas aux médicaments de première intention administrés sous surveillance directe [308,309]. Lorsque l'IDR est positive, alors que la radiographie pulmonaire et les résultats de l'aspiration gastrique sont négatifs, l'enfant symptomatique est traité par un antibiotique à

large spectre (inactif sur le BK). Dans tous les cas , cet enfant doit être suivi de près au minimum tous les 3 mois. Si l'état clinique se détériore progressivement , un traitement empirique de la tuberculose multirésistante, établi en fonction de l'antibiogramme de la souche du contact, sera instauré [285–310]. Pour les contacts proches asymptomatiques avec un risque élevé de développer une tuberculose multirésistante (enfants en bas âge, personnes immunodéprimées), un traitement préventif à base d'isoniazide peut être envisagé . Cependant, les recommandations publiées jusqu'à ce jour sont très diverses et basées sur des avis d'experts, car il n'existe actuellement aucune évidence de l'efficacité du traitement préventif [307]. Une étude menée en Afrique du Sud chez des enfants de parents atteints de tuberculose multirésistante a démontré qu'un traitement préventif, adapté à la sensibilité du germe du cas source, diminue le risque ultérieur de développer une tuberculose [311] . Pour l'OMS, l'usage systématique d'antituberculeux de deuxième ligne pour la prévention des contacts des cas de tuberculose multirésistante n'est pas recommandé [277–303]. Dans tous les cas, les contacts proches doivent bénéficier d'un suivi clinique attentif pendant au moins deux ans [312].

12.6 Contrôle et prévention de la tuberculose multirésistante

Le contrôle de la tuberculose multirésistante peut s'effectuer à deux niveaux : le contrôle individuel par le traitement approprié et supervisé des malades et le contrôle général par la prévention des erreurs qui aboutissent à la sélection de souches multirésistantes [313] . La stratégie du traitement directement observé et supervisé (stratégie DOTS) reste ainsi la meilleure approche pour prévenir l'apparition et la propagation de ces formes de tuberculose résistante. D'autre part, la prévention se base sur le diagnostic précoce de tout nouveau cas de tuberculose et la possibilité d'un dépistage rapide de la résistance (pour éviter la mise d'un malade résistant sous un traitement inapproprié) ainsi que des mesures d'isolement efficaces dès la suspicion de multirésistance en hospitalisant le patient et en maintenant son isolement jusqu'à négativation des expectorations [312,313].

II. Discussion des résultats :

1. Prévalence

La résistance à l'Isoniazide est la résistance la plus rencontrée dans les cas de tuberculose [314]. Dans notre population d'étude la prévalence de cas de tuberculose résistante à l'INH est de 15.6 % (15 isolats INH 'R' dans 96 isolats MTB), cette prévalence est considérée élevée à celle rapportée par M.L. Munang et al en Uni Royaume (3%) [314], de Zufan Bedewi Omer et al en Ethiopie (9%) [315], O. Abdelhadi et al en Tchad (13%) [316], Uçar E et al en Turquie (12.3%) [317], Baykal ES et al dans la province de Van en Turquie (12 %) [318] et basse à celle rapportée par B. Chevalier et al au Sénégal (Dakar) (18.9%) [319], Desikan P et al en Inde (27.4%) [320], et Mubarak Saif Alfaresi et Mohammed Hag–Ali en Emirats Arabes Unis (34.5%) [321].

Tableau XIII : Comparaison de nos résultats de prévalence de la résistance à l'Isoniazide avec des études internationales

Auteur	Pays	Année de Publication	Prévalence
M.L. Munang et al [314]	Uni Royaume	2014	3%
Zufan Bedewi Omer et al [315]	Ethiopie	2016	9%
O. Abdelhadi et al [316]	Tchad	2012	13%
Uçar E et al [317]	Turquie	2010	12.3%
Baykal ES et al [318]	Turquie (province de Van)	2014	12%
B. Chevalier et al [319]	Sénégal (Dakar)	2010	18.9%
Desikan P et al [320]	Inde	2017	27.4%
Mubarak Saif Alfaresi et Mohammed Hag–Ali [321]	Emirats Arabes Unis	2010	34.5%
Notre étude	Maroc (Marrakech)	2017	15.6%

2. Résistance simultanée à l'Isoniazide et à la Rifampicine

La rifampicine et l'isoniazide sont deux antituberculeux majeurs largement utilisés dans les pays à forte prévalence de tuberculose. Utilisées en phase initiale et en phase d'entretien, ces deux molécules constituent la clé des régimes thérapeutiques de base. Ainsi que la Rifampicine est considéré comme un marqueur de substitution de la MDR pour son association fréquente (80–95% des cas) avec une résistance à l'isoniazide [322,323]

Dans notre étude, les résultats indiquent que la résistance à l'isoniazide est accompagnée à la résistance à la rifampicine dans 80% des cas , sur 15 cas résistants à la rifampicine 80% (12/15) étaient résistants à l'isoniazide (MDR) et 20% (3/15) étaient sensible à l'isoniazide , cette relation est vraiment significative ($p < 0.0001$). Nos résultats corroborent les résultats de plusieurs études trouvées dans la littérature , et cela démontre que la simultanité de la résistance du *Mycobacterium tuberculosis* à l'Isoniazide et à la Rifampicine est un phénomène réel . Dans une étude récente faite au sud-ouest d' Ethiopie , Muluaem Tadesse et al, ont prouvé cette simultanité de résistance sur 23 souches résistantes au RIF selon Xpert MTB / RIF, 87% (20/23) étaient résistantes aux RIF et INH (MDR), 8,7% (2/23) étaient RIF monorésistants [324] , en outre dans une autre étude aussi récente faite au Gabon , Abraham Alabi et al ont trouvé que toutes les souches résistantes à la rifampicine présentent également une résistance élevée contre l'isoniazide de haut niveau correspondant aux gènes *katG* [325]. De même en Inde (New Delhi) Jyoti Arora et al ont trouvée que la résistance à l'Isoniazide est associée à celle de la Rifampicine dans 99.3% des cas [326] . En Chine WANG Sheng Fen et al ont trouvé aussi une relation entre la résistance à l'Isoniazide et la Rifampicine , sur 185 cas résistants à la Rifampicine 86.4% (160/185) étaient résistants à l'Isoniazide [327]. Dans une analyse faite sur les données de 14 laboratoires supranationaux de référence de tuberculose, E. V. Kurbatova et al ont trouvé un pourcentage de simultanité de résistance à l'INH et au RIF qui varie entre 88.4 % en République de Corée et 99.5 % en Afrique du Nord et Moyen Orient (Afghanistan, Algérie, Egypte, Tunisie, Djibouti) [328] .

Cependant, Dans une analyse rétrospective des données provenant de plus de 81 pays et entités infranationales, S. E. Smith et al ont trouvé que, dans les contextes à prévalence relativement faible de tuberculose MDR (un tiers de l'ensemble des pays et des entités infranationales), dans plus de 40% des isolats résistants à la RMP provenant de nouveaux cas de TB, il n'y avait pas de résistance à l'isoniazide (INH) [329] ; alors La résistance à la RMP ne constitue pas toujours une bonne approche d'un diagnostic probable de TB à germes multirésistants et cela varie en fonction de la région géographique et sa prévalence en tuberculose MDR , d'où la nécessité de déterminer la sensibilité à l'Isoniazide aussi rapidement autant que possible et l'INH devrait être inclus dans le régime du traitement au moins jusqu'à ce que la résistance à l'INH soit prouvée.

Tableau XIII: Comparaison de nos résultats de simultanité de la résistance à l'Isoniazide et au Rifampicine avec des études internationales

Auteur	Pays	Année de Publication	Pourcentage de simultanité de la résistance à l'INH et au RIF
Mulualem Tadesse et al [324]	sud-ouest d'Ethiopie	2016	87%
Abraham Alabi et al [325]	Gabon	2017	100%
Jyoti Arora et al [326]	Inde (New Delhi)	2016	99.3%
WANG Sheng Fen et al [327]	Chine	2016	86.4%
E. V. Kurbatova et al [328]	République de Corée	2012	88.4 %
	en Afrique du Nord et Moyen Orient		99.5 %
S. E. Smith et al [329]	Pays à faible prévalence TB-MDR	2011	60%
Notre étude	Maroc (Marrakech)	2017	80%

3. Comparaison de la sensibilité des techniques d'identification du *Mycobacterium tuberculosis* (l'examen direct et l'étude moléculaire)

La fiabilité et la rapidité du diagnostic de la tuberculose sont importantes pour entreprendre un traitement adapté chez tout patient suspect de tuberculose active, et mettre en place les mesures d'isolement indispensables pour prévenir la transmission de la maladie.

Dans notre étude la sensibilité de l'examen microscopique direct à détecter le *Mycobacterium tuberculosis* était de 71% , cette sensibilité élevée peut être expliquée par la nature de prélèvement qui est respiratoire dans la majorité des cas (90% d'expectoration , 2% d'aspiration bronchique) , de même V. Drouillon et al ont trouvé des résultats similaires ; dans 14 échantillons respiratoires à culture positive à MTB l'examen microscopique était positif dans 11 cas (78,6 % de sensibilité) [330] , par ailleurs Awa Ba Diallo et al , dans des échantillons extra pulmonaire , ont trouvé une sensibilité de 43.86 % [331].

Cependant dans notre étude , l'étude moléculaire a une sensibilité plus élevée par rapport à celle de l'examen microscopique direct , sur 100 cultures positives l'étude moléculaire a détecté 96 isolats MTB (soit 96% de sensibilité), de même Catharina C . et al ont démontré que sur des cultures positives la sensibilité du test direct de MTB / RIF est de 98,2% pour les patients atteints de tuberculose à microscopie positif , et peut arriver jusqu'à 90,2% pour les patients atteints de tuberculose à microscopie négatifs [332]. En outre Sabine Hofmann-Thie et al ont trouvé une sensibilité à détecter le *Mycobacterium tuberculosis* de 88.5 % pour GenoType MTBDRplus [333].

4. Données démographiques :

4.1 L'âge :

Dans notre étude la moyenne d'âge dans le groupe des patients ayant une tuberculose résistante à l'INH est de 44 ans avec des extrêmes allant de 21 et 82 ans. Dans la littérature l'âge moyen est entre 30.8 et 47 ans.

Tableau XV: L'âge moyen chez les patients ayant une tuberculose résistante à l' Isoniazide selon les différentes études

Auteur	Pays	Année de publication	Age moyen
M.L. MUNANG et al [314]	Uni Royaume (Birmingham)	2014	30.8
Smith CM et al [334]	Angleterre et Pays de Galles	2017	36 (25-42)
Adithya Cattamanchi, MD et al [335]	Californie (San Francisco)	2009	47
Notre série	Maroc (Marrakech)	2017	44

4.2 Le sexe :

Le sexe masculin était majoritaire chez les patients ayant une tuberculose résistante à l'INH on note une prédominance masculine marquée 10 hommes soit 66.7% contre 5 femmes soit 33.3% , le sex ratio est de 2 .

Tableau XVI : Répartition selon le sexe chez les patients ayant une tuberculose résistante à l'Isoniazide selon les différents études

Auteur	Pays	Année de publication	Pourcentage du sexe masculin
Adithya Cattamanchi, MD et al [335]	Californie (San Francisco)	2009	63%
Smith CM et al [334]	Angleterre et Pays de Galles	2017	70% (61.9–72.8)
M.L. MUNANG et al [314]	Uni Royaume (Birmingham)	2014	46%
Notre série	Maroc (Marrakech)	2017	66.7%

5. Facteurs de risque :

Dans notre étude l'analyse multivariée nous a permis d'objectiver un seul facteur de risque qui était lié à la résistance à l'INH de façon statistiquement significative , à savoir le traitement antérieure ($P=0.0336$ OR =7.2895 IC [1.0074;323.2416]) , (tableau VIII) . De même Adithya Cattamanchi, MD . et al , en Californie (San Francisco), ont trouvé aussi , dans leur analyse multivariée , que le traitement antérieur est le seul facteur de risque significativement associé à la résistance à l'INH [335] . En outre Hoopes AJ et al . en États-Unis dans une analyse multivariée ont démontré aussi que le traitement antérieur et l'échec de traitement est un facteur de risque significatif de la résistance à l'INH en association avec autres facteurs de risque (les races et les groupes ethniques des patients) [336] . Cependant , M.L. MUNANG et al, en Uni Royaume (Birmingham) , n'ont trouvé aucun facteur de risque significatif lié à la résistance à l'INH [314].



CONCLUSION



L'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques antituberculeux a été rapportée dès leurs premières utilisations. On pensait ce problème contrôlable via l'utilisation de thérapies combinées. Des souches résistantes et même multirésistantes se sont cependant développées dans le monde entier. Des programmes adaptés de contrôle et de lutte ont été mis sur pied pour répondre à cette situation mais le problème persiste.

Dans notre étude, la prévalence de la résistance à l'Isoniazide déterminée par étude moléculaire est de 15.6 % , cette prévalence est considérée élevée à celles rapportées dans plusieurs études internationales et basse à celles rapportées dans d'autres études des pays où la prévalence est relativement élevée de tuberculose résistante .

Il ressort de cette étude que le principal facteur de risque de la résistance à l'Isoniazide est le traitement antérieur ($P=0.0336$) (échec ou arrêt de traitement) . En effet des efforts devraient être entrepris pour améliorer la conformité à la stratégie DOTS par l'observation directe plus précise et l'accès aux tests de laboratoire.

Ces résultats suggèrent aussi que des mesures doivent être prises dès le premier contact du patient tuberculeux avec le système de santé. Afin d'éviter la tuberculose pharmaco résistante :

- ✚ Améliorer le taux de guérison pour atteindre 95% en renforçant la stratégie DOTS.
- ✚ Prévenir les échecs thérapeutiques.
- ✚ Auditer tous les cas d'échecs thérapeutique.
- ✚ Analyser les déterminants de l'échec du traitement de la tuberculose dans la région de Marrakech.
- ✚ Améliorer l'observance de traitement en établissant avec tous les patients un climat de confiance basé sur l'appréciation des besoins du patient (éducation, sensibilisation) et le personnel de santé pour favoriser et améliorer l'observance de traitement

- ✚ prévenir les rechutes de TB après l'arrêt de traitement en recommandant au malade de consulter à nouveau en cas de réapparition de symptômes respiratoires
- ✚ Renforcer la surveillance de la tuberculose pharmaco résistante.
- ✚ L'introduction des tests de biologie moléculaire dans la détection des résistances du complexe *M. tuberculosis* aux antituberculeux dans les centres de référence .
- ✚ mener des études des caractéristiques de résistance de souches récoltées dans des populations cibles pour chercher les mutations les plus fréquemment rencontrées dans notre région .



ANNEXES



Fiche d'exploitation

N° Patient :

service :

origine :

Sexe : F M

Age :

ATCD	Personnels	ATCD de tuberculose	Pulmonaire	Oui	Non
			Extra pulmonaire	Oui	Non
			Laquelle		
		Notion de contagement tuberculeux		Oui	Non
		Autre			
	Familiaux	présence		Oui	Non
Les quels					
Conditions prédisposant à la tuberculose					
Diabète			Oui	Non	
Infection à VIH			Oui	Non	
Immunodépression			Oui	Non	
Traitement immunosuppresseur			Oui	Non	
Insuffisance rénale			Oui	Non	
Cachexie, sujet âgée			Oui	Non	
Alcoolisme			Oui	Non	
Tabagisme			Oui	Non	
Faible niveau socio-économique			Oui	Non	
Données cliniques :					
Diagnostic clinique					

Diagnostic bactériologique :		
Nature de prélèvement		
Examen direct		Positive Négative
Culture		Positive Négative
Bilan	Bilan hépatique	
Pré thérapeutique	Bilan rénal	
	Acide urique	
Traitement	Régime prescrit et posologie	
	Durée	
Evolution de la maladie	Guérison	
	Rechute	
	Perdu de vue	
	Décès	



RÉSUMÉS



RESUME

L'augmentation des cas de tuberculoses pharmaco résistantes est un phénomène réel et une préoccupation dans de nombreux pays. Au Maroc l'ampleur du problème de pharmaco résistance aux antituberculeux n'est pas très bien connu, alors qu'elle pose un problème majeur de santé publique . L'objectif principal de cette étude est de connaître la prévalence des patients ayant une tuberculose résistante à l'Isoniazide , chez des cas de tuberculose (pulmonaire ou extra pulmonaire nouveaux cas ou antérieurement traités) , confirmée avec culture positive dans la région de Marrakech , de comparer la sensibilité des techniques d'identification du *Mycobacterium tuberculosis* (l'examen microscopique direct et l'étude moléculaire) et de vérifier la simultanéité de la résistance à l'isoniazide et à la rifampicine , ainsi que l'identification des principaux facteurs de risques associés à la résistance à l'Isoniazide .

Il s'agit d'une étude prospective menée du premier janvier 2015 au 31 décembre 2016, incluant 100 patients, les cultures positives des malades inclus ont fait l'objet d'une étude moléculaire d'identification du *Mycobacterium tuberculosis* et à la recherche de la pharmaco résistance de la tuberculose à l'Isoniazide et la simultanéité de cette résistance à celle de la Rifampicine.

Afin de ressortir les facteurs de risque de la résistance à l'Isoniazide , nous avons étudié et comparé les paramètres démographiques , cliniques , bacteriologique et de la biologie moléculaire , chez deux groupes de patients : patients avec tuberculose résistante à l'INH et patients avec tuberculose sensible à l'INH . L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS statistics 17.0.

L'âge moyen de nos patients est de 41.14 ans avec des extrêmes allant de 14 à 82 ans, avec une prédominance de tranche d'âge jeune [30-45[, et de sexe masculin 80% , sex ratio de 4 . La sensibilité de l'étude moléculaire à détecter le *Mycobacterium tuberculosis* dans notre étude est de 96% ; élevée à celle de l'examen microscopique direct qui est de 71% .

Chez les patients ayant une tuberculose résistante à l'INH l'âge moyen est de 44 ans avec des extrêmes allant de 21 et 82 ans avec prédominance de sexe masculin 66.7% des cas , et sex ratio de 2.

La prévalence de la résistance à l'INH dans notre population d'étude est de 15.6% , et cette résistance était accompagnée à celle de la rifampicine dans 80% des cas .

Il n'existe pas de différence significative entre les deux groupe pour l'âge et le sexe . Le seul facteur de risque lié significativement à la résistance à l'Isoniazide est le traitement antérieur des patients (P=0.0336) . le respect des protocoles thérapeutiques et l'amélioration de la stratégie DOTS par l'observation directe plus précise et l'accès aux tests de laboratoire pourraient limiter l'émergence de cette résistance .

Abstract

The increase in cases of drug-resistant tuberculosis is a real phenomenon and a concern in many countries. In Morocco the magnitude of the problem of drug resistance to antituberculosis is not very well known, whereas it poses a major public health problem. The main objective of this study is to know the prevalence of patients with tuberculosis resistant to Isoniazid, in cases of tuberculosis (pulmonary or ex-pulmonary new cases or previously treated), confirmed with positive culture in the region Of Marrakech, to compare The sensitivity of Mycobacterium tuberculosis identification techniques (direct examination and molecular study) and the simultaneity of resistance to isoniazid and rifampicin, as well as identification of the main risk factors Associated with resistance to Isoniazid.

This is a prospective study conducted from January 1, 2015 to December 31, 2016, including 100 patients, the positive cultures of the included patients were the subject of a molecular study of Mycobacterium tuberculosis identification and The search for the pharmacaco resistance of tuberculosis to Isoniazide and the simultaneity of this resistance to that of Rifampicin.

In order to highlight the risk factors for Isoniazid resistance, we studied and compared the demographic, clinical, bacteriological and molecular biology parameters in two groups of patients: patients with tuberculosis resistant to INH and Patients with tuberculosis susceptible to INH. The statistical analysis was carried out using SPSS statistics 17.0software. The average age of our patients is 41.14 years with extremes ranging from 14 to 82 years, with a predominance of young age group [30-45], and of male 80%, Sex ratio of 4. The sensitivity of the molecular study to detect Mycobacterium tuberculosis in our study is 96%; Higher than that of direct microscopic examination which is 71%.

In patients with INH-resistant tuberculosis the average age is 44 years with extremes ranging from 21 and 82 years with male predominance 66.7% of cases Sex ratio of 2.

The prevalence of resistance to INH in our study population was 15.6%, and this resistance was accompanied by that of rifampicin in 80% of the cases. There was no significant difference between the two groups for age and sex. The only risk factor related to isoniazid resistance is the previous treatment of patients ($P=0.0336$). Adherence to treatment protocols and improvement of the DOTS strategy through more accurate direct observation and access to laboratory testing may limit the emergence of this resistance.

ملخص

تعرف ظاهرة الإصابة بداء السل المقاوم للمضادات الحيوية انتشارا مهما في العديد من دول العالم مما جعلها تتبوأ مكانة بارزة في أولوياتها . في المغرب تعتبر هذه الظاهرة مشكلة رئيسية في قطاع الصحة العمومية رغم أن الدراسات و المعطيات الخاصة بها لا تزال غير كافية .

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو معرفة نسبة انتشار المرضى المصابين بداء السل المقاوم للمضاد الحيوي (إيزونيازيد) , سواء السل الرئوي أو الذي يصيب الأعضاء خارج الرئة , بالنسبة للمرضى الجدد أو الذين سبق علاجهم , بمنطقة مراكش . بالإضافة إلى المقارنة بين مختلف تقنيات الكشف عن بكتيريا المتفطرات السلية أو الدرنية المسببة لهذا الداء (الفحص المجهرى المباشر والدراسة الجزيئية) , و كذلك التحقق من تزامن مقاومة الإيزونيازيد والريفامبيسين , ثم تحديد العوامل الرئيسية المساعدة على ظهور السل المقاوم للمضاد الحيوي (إيزونيازيد) .

يتعلق الأمر بدراسة استقبالية أجريت بين فاتح يناير 2015 و 31 ديسمبر 2016 , و شملت 100 مريض يعانون من داء السل .

العينات المأخوذة من المرضى خضعت للفحص المجهرى و الزرع ثم للدراسة الجزيئية على العينات التي تحمل المتفطرات السلية حسب نتائج الزرع , من أجل البحث عن البكتيريا المقاومة للمضاد الحيوي (إيزونيازيد) و تحديد نسبة تزامن هذه المقاومة مع مقاومة (الريفامبيسين) .

من أجل إبراز العوامل المساعدة على ظهور السل المقاوم للمضاد الحيوي (إيزونيازيد) , قمنا بدراسة و مقارنة العوامل الديموغرافية , السريرية بالإضافة إلى نتائج البيولوجيا الجرثومية والجزيئية , لدى مجموعتين من المرضى : المصابين و غير المصابين بمتفطرات سلية مقاومة للمضاد الحيوي (إيزونيازيد) . و قد تمت المعالجة الإحصائية باعتماد برنامج SPSS Statistics- 129 -17.0 .

تتراوح أعمار المرضى المتابعين بين 14 و 82 سنة , بمتوسط عمري يبلغ 41.14 سنة و يتفوق ذكوري تصل نسبته إلى 80 % مع معدل جنسي يعادل 4 .

حساسية الدراسة الجزيئية في الكشف عن المتفطرات السلية المتسببة في داء السل في هذه الدراسة تصل إلى 96% , أعلى من حساسية الفحص المجهرى المباشر التي لم تتجاوز 71% .

بالنسبة للمرضى المصابين بمتفطرات سلية مقاومة للمضاد الحيوي (إيزونيازيد) أعمارهم تراوحت بين 21 و 82 سنة بمتوسط عمري يبلغ 44 سنة و يتفوق ذكوري بنسبة 66.7% و معدل جنسي يعادل 2 .

بلغت نسبة انتشار المرضى المصابين بداء السل المقاوم للمضاد الحيوي (إيزونيازيد) في هذه الدراسة 15.6% و هذه المقاومة كانت متزامنة مع مقاومة (الريفامبيسين) لدى 80% من الحالات .

و قد تبين أنه لا يوجد هناك أي فرق محسوس بين المجموعتين فيما يتعلق بالسن و الجنس . بينما اتضح أن العلاج السابق باستخدام المضاد الحيوي (إيزونيازيد) هو العامل الأساسي في ظهور مقاومة البكتيريا المسببة لداء السل لهذا المضاد الحيوي (P =0.0336) .

مما سبق نؤكد أن الامتثال لبروتوكولات العلاج وتحسين إستراتيجية (DOTS) بواسطة المعالجة القصيرة الأمد وعن طريق الملاحظة المباشرة الدقيقة , يمكنه الحد من ظهور هذه الظاهرة .



BIBLIOGRAPHIE



1. **World Health Organization.**
Global tuberculosis control. Geneva, Switzerland: WHO; 2012 [Available at:WHO/HTM/TB/2012].
2. **Communiqué de presse .**
Les actions et les investissements engagés au niveau mondial pour mettre fin à l'épidémie de tuberculose sont très loin d'être suffisants
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/tuberculosis-investments-short/fr/>
3. **Helb D, Jones M, Story E, Boehme C, Wallace E, Ho K, et al.**
*Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. Journal of clinical microbiology. 2010;48(1):229-37*
4. **Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al.**
Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. The New England journal of medicine. 2010;363(11):1005-15.
5. **Piatek AS, Telenti A, Murray MR, El-Hajj H, Jacobs WR, Jr, Kramer FR, et al.**
*Genotypic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in two distinct populations using molecular beacons: implications for rapid susceptibility testing. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2000;44(1):103-10.*
6. **World Health Organization.**
Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2015.
7. **C. Truffot-Pernot , N. Veziris .**
Les tests bactériologiques de la tuberculose maladie standards et perspectives. Revue des Maladies Respiratoires (2011) 28, 1034—1047
8. **Ling D, Zwerling A, Pai M.**
GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: . 2008 .a meta-analysis. Eur. Respir. J. 32:1165-1174
9. **Barnard M, Albert H, Coetzee G, O'Brien R, Bosman ME.**
Rapid molecular screening for multidrug-resistant tuberculosis in a high-volume public health laboratory in South Africa. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 177:787-792.2008.

10. ILBOUDO Désiré .

Mémoire Pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Moléculaire de l'Université de Ouagadougou . DIAGNOSTIC MOLECULAIRE PAR PCR EN TEMPS REEL DU COMPLEXE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS RESISTANT A L'ISONIAZIDE ET A LA RIFAMPICINE.page Numéro 40 Soutenu le, 24 juin 2013.

11. S. Godreuil , C. Carrière , E. Jumas-Bilak , D. Terru , H. Marchandin .

Diagnostic moléculaire des infections à mycobactéries (Molecular diagnosis of mycobacteria). La Lettre du Pneumologue – Volume VI – no 2 – mars-avril 2003

12. Manuel d'utilisation .

GeneXpert Dx System . logiciel version 4 . 301-0045F , Rév.C , juin 2012

13. Bonard D, Msellati P, Rigouts L, et al.

What is the meaning of repeated isolation of Mycobacterium africanum? Int J Tuberc Lung Dis 2000; 4: 1176-80

14. O'Reilly LM, Daborn CJ.

The epidemiology of Mycobacterium bovis infections in animals and man: a review. Tuberc Lung Dis 1995; 76 (suppl 1): 1-46.

15. Prodinger,W.M., Eigentler, A., Allerberger, F., Schonbauer, M., Glawischnig,W.,

Infection of red deer, cattle, and humans with Mycobacterium bovis subsp. caprae in western Austria. Journal of Clinical Microbiology 40, 2270-2272. 2002.

16. Van Soolingen D, Van der Zanden AG, De Haas PE, Noordhoek GT, Kiers A, Foudraine NA, et al.

Diagnosis of Mycobacterium microti infections among humans by using novel genetic markers. J Clin Microbiol 1998;36:1840-5 [PMC free article] [PubMed]

17. Smith NH, Hewinson RG, Kremer K, Brosch R, Gordon SV.

Myths and misconceptions: the origin and evolution of Mycobacterium tuberculosis. Nat Rev Microbiol. 2009;7:537-44 10.1038/nrmicro2165 [PubMed][Cross Ref]

18. Garnier, T., Eiglmeier, K., Camus, J.C., Medina, N., Mansoor, H., Pryor, et al.

The complete genome sequence of Mycobacterium bovis. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America 100, 7877-7882. 2003.

19. **Bodil E. Joˆnsson, Marita Gilljam, Anders Lindblad, Malin Ridell, Agnes E. Wold, and Christina Welinder-Olsson,**
*Molecular Epidemiology of Mycobacterium abscessus, with Focus on Cystic Fibrosis. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, May 2007, p. 1497-1504. 0095-1137/07/\$08.000
doi:10.1128/JCM.02592-06. Copyright © 2007, American Society for Microbiology .*
20. **LE MINOR L., VERON M.**
Bactériologie médicale. Paris: Flammarion, 1990.- II 07p
21. **GABORIT Benjamin .**
Tuberculose MDR et XDR du grand Ouest :Enquête multicentrique rétrospective sur les tuberculoses MDR et XDR du grand Ouest de 2002 à 2013 : THESE N° 111 Pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE
22. **KONNO K, KURZMANN R, BIRD KT.**
The metabolism of nicotinic acid in Mycobacteria: a method for differentiating tubercle bacilli of human origin from other Mycobacteria. Am Rev Tuberc. avr 1957;75(4):529-537.
23. **Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al.**
Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. Nature. 11 juin 1998;393(6685):537-544
24. **Pym AS, Brodin P, Majlessi L, Brosch R, Demangel C, Williams A, et al.**
Recombinant BCG exporting ESAT-6 confers enhanced protection against tuberculosis. Nat. Med. mai 2003;9(5):533-539.
25. **Marchal G.**
La réponse immunitaire au cours de la tuberculose. Méd Thér 1995;1:19-29
26. **Huchon G.**
Infection tuberculeuse et tuberculose pulmonaire de l'adulte. Rev Mal Respir 1997;14(suppl5):S49-S59
27. **Conférence de consensus du 15 décembre 1994.**
La tuberculose : comment arrêter l'épidémie actuelle? Rev Mal Respir 1995;12:R132-R157
28. **Saiman L, San Gabriel P, Schulte J, Vargas MP, Kenyon T, Onorato I.**
Risk factors for latent tuberculosis infection among children in New York City. Pediatrics 2001;107:999-1003.

29. Bailey WC, Gerald LB, Kimerling ME, Redden D, Brook N, Bruce F, et al.
Predictive model to identify positive tuber-culosis skin test results during contact investigations. JAMA 2002;87:996—1002.
30. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, Mc Adam KP, Whittle HC, Hill AV.
Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. N Engl J Med 1998;338:640—4.
31. Beyers N, Gie RP, Schaaf HS, Van Zyl S, Talent JM, Nel ED, et al.
A prospective evaluation of children under the age of 5 years living in the same household as adults with recently diagnosed pulmonary tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 1997;1:38—43.
32. Almeida LM, Barbieri MA, Da Paixão AC, Cuevas LE.
Use of purified protein derivative to assess the risk of infection in children in close contact with adults with tuberculosis in a population with high Calmette-Guerin bacillus coverage. Pediatr Infect Dis J 2001;20:1061—5.
33. Gessner BD, Weiss NS, Nolan CM.
Risk factors for pediatric tuberculosis infection and disease after household exposure to adult index cases in Alaska. J Pediatr 1998;132:509—13.
34. Murray M, Nardell E.
Molecular epidemiology of tuberculosis: achievements and challenges to current knowledge. Bull World Health Organ 2002;80:477—82.
35. Valway SE, Sanchez MP, Shinnick TF, Orme I, Agerton T, Hoy D, et al.
An outbreak involving extensive transmission of an avirulent strain of Mycobacterium tuberculosis. N Engl J Med 1998;338:633—9.
36. Bates MN, Khalakdina A, Pai M, Chang L, Lessa F, Smith KR.
Risk of tuberculosis from exposure to tobacco smoke: a systematic review and meta-analysis. Arch Intern Med 2007;167:335—42.
37. Lin HH, Ezzati M, Murray M.
Tobacco smoke, indoor air pollution and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. PLoS Med 2007;4:20.
38. Nnoaham KE, Clarke A.
Low serum vitamin D levels and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Int J Epidemiol 2008;37:113—9.

39. Rapport 2014 de l'OMS sur la lutte contre la tuberculose dans le monde
http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr14_execsummary_summary_fr.pdf
40. Rapport 2016 de l'OMS sur la lutte contre la tuberculose dans le monde
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/fr/>
41. The WHO/IUATLD Global project on antituberculosis drugresistance surveillance.
Antituberculosis drug resistance in the world; 2008 http://www.who.int/tb/publications/2008/drs_report4_26feb08.pdf
42. The Lancet.
The worldwide epidemic of multidrug-resistant tuberculosis. Lancet Inf Dis 2011;11:333.
43. World Health Organization. Données reportées à l'OMS.
Les estimations de la charge de TB et de TB-MR sont calculées par l'OMS en consultation avec les pays. Généré: 2017-05-20 Données: www.who.int/tb/data
44. Situation Epidémiologique de la Tuberculose au Maroc – Année 2015
http://www.sante.gov.ma/Documents/2016/03/Situation_%C3%A9pidimio_de_la_TB_au_Maroc__2015%20Fr%20V%2020%20mars.pdf
45. Hansted E, Sitkauskienė B, Kevalas R, Tattersall A, Day T.
Research for practice: a new in vitro test for identification of tuberculosis infection. Medicina (Kaunas) 2007;43:519–22.
46. Young D, Hussell T, Dougan G.
Chronic bacterial infections: living with unwanted guests. Nat Immunol 2002;3:1026–32.
47. Heym B, Chinet T.
Méthodes diagnostiques de l'infection tuberculeuse en 2007 : intradermoréaction à la tuberculine ou interféron- γ ? Rev Med Interne 2007;28:147–50.
48. Kaufmann SH, Schaible UE.
*A dangerous liaison between two major killers: *Mycobacterium tuberculosis* and HIV target dendritic cells through DC-SIGN. J Exp Med 2003;197:1–5.*
49. Flynn JL, Chan J.
Immunology of tuberculosis. Annu Rev Immunol 2001;19:93–129.
50. Ampofo KK, Saiman L.
Pediatric tuberculosis. Pediatr Ann 2002;31:98–108.

51. De Pontual L, Maury-Tisseron B, Gaudelus J.

Les présentations cliniques de la tuberculose chez l'enfant. Med Therap Pediatr 2004;95—100.

52. CDC, American Thoracic Society.

Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. MMWR Recomm Rep 2000;49:1—51.

53. Cecile B, Pascale J, Gilles R, Alain C.

Apport des tests de quantification de la libération d'interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés pour le diagnostic des infections tuberculeuses. Rev Francophone Lab 2009;39:34—41.

54. Herrmann JL, Tailleux L, Nigou J, et al.

Le rôle des cellules dendritiques humaines dans la tuberculose : protecteur ou nonprotecteur ? Rev Mal Respir 2006;23, 6S21—6S16.

55. Lalvani A.

Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy. Chest 2007;131:1898—906.

56. Huguette L, Frédéric L.

Place des tests à l'interféron (IGRAs) dans le dépistage de la tuberculose latente (TBL) avant prescription d'agents anti-TNF : le point. Rev Rhum 2011;78:116—21.

57. Billy C, Perronne C.

Aspects cliniques et thérapeutiques de la tuberculose chez l'enfant et l'adulte. EMC—Maladies Infectieuses 2004 [8-038-C-30, 18p].

58. Aktoǵu S, Yorgancioglu A, Cirak K, et al.

Clinical spectrum of pulmonary and pleural tuberculosis: a report of 5,480 cases. Eur Respir J 1996;9:2031—5.

59. Che D, Antoine D.

Immigrants and tuberculosis: recent epidemiological data. Med Mal Infect 2009;39:187—90.

60. Lacombe C, Lewin M, Monnier-Cholley L, et al.

Imaging of thoracic pathology in patients with AIDS. J Radiol 2007;88:1145—54.

61. Hargreaves NJ, Kadzokumanja O, Whitty CJ, et al.

'Smear negative' pulmonary tuberculosis in a DOTS programme: poor outcomes in an area of high HIV seroprevalence. Int J Tuberc Lung Dis 2001;5:847—54.

62. Johnson JL, Vjecha MJ, Okwera A, et al.
Impact of human immunodeficiency virus type-1 infection on the initial bacteriologic and radiographic manifestations of pulmonary tuberculosis in Uganda. Int J Tuberc Lung Dis 1998;2:397–404.
63. Girardi E, Sabin CA, d'Arminio Monforte A, et al.
Incidence of tuberculosis among HIV-infected patients receiving HAART in Europe and North America. Clin Infect Dis 2005;41:1772–82.
64. Brinkhof MW, Egger M, Boule A, et al.
Tuberculosis after initiation of antiretroviral therapy in low-income and high-income countries. Clin Infect Dis 2007;45:1518–21.
65. Valin N, Pacanowski J, Denoeud L, et al.
Risk factors for “unmasking immune reconstitution inflammatory syndrome” presentation of tuberculosis following combination antiretroviral therapy initiation in HIV-infected patients. AIDS 2010;24:1519–25
66. Rapport 2010 sous la direction du Pr. Patrick Yeni.
Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. La documentation franc, aise. 417 p.
67. Barnes PF, Verdegem TD, Vachon LA, Leedom JM, Overturf GD.
Chest roentgenogram in pulmonary tuberculosis. New data on an old test. Chest 1988;94:316–20.
68. May T, Bevilacqua S.
Aspects cliniques actuels de la tuberculose. EMC-Radiologie 2005;5 [32–390–A–10].
69. Andreu J, Cáceres J, Pallisa E, Martinez-Rodriguez M.
Manifestations radiologiques de la tuberculose pulmonaire. EMC-Radiologie 2005 [32–390–A–20; 12p].
70. Choyke PL, Sostman HD, Curtis AM, Ravin CE, Chen JT, Godwin JD, et al.
Adult-onset pulmonary tuberculosis. Radiology 1983;148:357–62.
71. Miller WT, Mac Gregor RR
Tuberculosis: frequency of unusual radiographic findings. AJR Am T Roentgenol 1978;130:867–75.

- 72. Farman DP, Speir Jr WA.**
Initial roentgenographic manifestations of bacteriologically proven Mycobacterium tuberculosis. Typical or atypical? Chest 1986;89:75—7.
- 73. 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.
- 74. Marciniuk DD, Mc Nab BD, Martin WT, Heppner VH.**
Detection of pulmonary tuberculosis in patients with a normal chest radiograph. Chest 1999;115:445—52.
- 75. Ben Kheder A.**
Guide de prise en charge de la tuberculose en Tunisie; 2014 [124 p.].
- 76. Breen RA, Leonard O, Perrin FM, Smith CJ, Bhagani S, Cropley I, 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.
- 77. Lee P, Ho KK.**
Hyponatremia in pulmonary TB evidence of ectopic antidiuretic hormone production. Chest 2010 [137—207—8].
- 78. World Health Organization.**
Global tuberculosis control. Geneva, Switzerland: WHO; 2012 [Available at: WHO/HTM/TB/2012].
- 79. Synthèse :**
diagnostic de la tuberculose. Rev Mal Respir 2006;23:33—4.
- 80. Haut Conseil de la santé publique HCSP.**
Tuberculose et tests IGRA. 2011. Available at: http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/hcsp/2011_tuberculose_rapport_HCSP.pdf (last accessed 31/09/2013).
- 81. L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) ou test à la tuberculine.**
Rev Mal Respir 2003;20:527—33.
- 82. Menzies D.**
Interpretation of repeated tuberculin tests. Boosting, conversion, and reversion. Am J Respir Crit Care Med 1999;159:15—21.

83. Diel R, Loddenkemper R, Niemann S, Meywald-Walter K, Nien-haus A.
Negative and positive predictive value of whole blood interferon- gamma release assay for developing active tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 2011;183:88–95.
84. Cecile B, Pascale J, Gilles R, Alain C.
Apport des tests de quantification de la libération d'interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés pour le diagnostic des infections tuberculeuses. Rev Francophone Lab 2009;39:34–41.
85. Diel R, Loddenkemper R, Niemann S, Meywald-Walter K, Nien-haus A.
Negative and positive predictive value of whole blood interferon- gamma release assay for developing active tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 2011;183:88–95.
86. Menzies D, Pai M, Comstock G.
3 meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Ann Intern Med 2007;146:340–54.
87. Lancelot MP, Jasmine G, Samuel GS, Claudia MD, Karen RS, Madhukar P.
Immunodiagnosis of tuberculosis state of the art. Med Princ Pract 2012;21:4–13.
88. Kobashi Y, Sugiu T, Mouri K, Obase Y, Miyashita N, Oka M.
Indeterminate results of QuantiFERON TB-2G test performed in routine clinical practice. Eur Respir J 2009;33:812–5.
89. Menzies D.
Interpretation of repeated tuberculin tests. Boosting, conversion, and reversion. Am J Respir Crit Care Med 1999;159:15–21.
90. Synthèse :
diagnostic de la tuberculose. Rev Mal Respir 2006;23:33–4.
91. L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) ou test à la tuberculine.
Rev Mal Respir 2003;20:527–33.
92. Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K, et al.
Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection— United States, 2010. MMWR Recomm Rep 2010;59:1–25.

93. **Canadian Tuberculosis, Committee.**
Recommendations on interferon gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection — 2010 update. Can Commun Dis Rep 2010;36:1.
94. **Haute Autorité de santé :**
test de détection de la production d'interféron (pour le diagnostic des infections tuberculeuses. Service évaluation des actes professionnels/décembre 2006. Available at: nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/has/2007tuberculose synthese HAS.pdf (last accessed 31/09/2013).
95. **Haut Conseil de la santé publique HCSP.**
Tuberculose et tests IGRA. 2011. Available at: http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/hcsp/2011_tuberculose_rapport_HCSP.pdf (last accessed 31/09/2013).
96. **Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, Iademaro MF, Metchock B, Vernon A.**
Division of tuberculosis elimination, national center for HIV, STD, and TB prevention, centers for disease control and prevention (CDC). Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. MMWR Recomm Rep 2005;54:49—55.
97. **Kampmann B, Whittaker E, Williams A, Walters S, Gordon A, Martinez-Alier N, et al.**
Interferon-gamma release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. Eur Respir J 2009;33:1374—82.
98. **Mahassini N, Jelthi A, Mansouri F, El Hachimi A.**
Place de l'anatomie-pathologique dans le diagnostic de la tuberculose. Med Maghreb 2001;87:29—32.
99. **Taylor Z, Marks SM, Ríos Burrows NM, Weis SE, Stricof RL, Miller B.**
Causes and costs of hospitalization of tuberculosis patients in the United States. Int J Tuberc Lung Dis 2000;4:931—9.
100. **Centers for disease control and prevention.**
Reported tuberculosis in US. 2008. Available at: <http://www.cdc.gov/tb/statistics/reports/2008/default.htm> (last accessed 30/septembre/2013).
101. **WHO Genève:**
Améliorer le diagnostic de la tuberculose pulmonaire à frottis négatif et extrapulmonaire.; 2007. Available at: [who int tb 2007.379 fre.pdf](http://who.int/tb/2007.379_fre.pdf). (last accessed 30 septembre 2013).

102. Mase SR, Ramsay A, Ng V, et al.

Yield of serial sputum specimen examinations in the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review. Int J Tuberc Lung Dis 2007;11:485–95.

103. Warren JR, Bhattacharya M, De Almeida KN, et al.

A minimum 5.0mL of sputum improves the sensitivity of acid-fast smear for Mycobacterium tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:1559–62.

104. Minion J, Sohn H, Pai M.

Light-emitting diode technologies for TB diagnosis: what is on the market? Expert Rev Med Devices 2009;6:341–5.

105. Palomino JC.

Molecular detection, identification and drug resistance detection in Mycobacterium tuberculosis. FEMS Immunol Med Microbiol 2009;56:103–11.

106. Ismail NA, Baba K, Pombo D, et al.

Use of an immunochromatographic kit for the rapid detection of Mycobacterium tuberculosis from broth cultures. Int J Tuberc Lung Dis 2009;13:1045–7.

107. Park MY, Kim YJ, Hwang SH, et al.

Evaluation of an immunochromatographic assay kit for rapid identification of Mycobacterium tuberculosis complex in clinical isolates. J Clin Microbiol 2009;47:481–4.

108. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, et al.

Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. Clin Microbiol Rev 2006;19:165–256.

109. Minion J, Zwerling A, Pai M.

Diagnostics for tuberculosis: what new knowledge did we gain through The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease in 2008? Int J Tuberc Lung Dis 2009;13:691–7.

110. Piersimoni C, Scarparo C.

Relevance of commercial amplification methods for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in clinical samples. J Clin Microbiol 2003;41:5355–65.

111. Center for Disease Control and Prevention.

Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009;58:7–10.

112. Green C, Huggett JF, Talbot E, et al.
Rapid diagnosis of tuberculosis through the detection of mycobacterial DNA in urine by nucleic acid amplification methods. Lancet Infect Dis 2009;9:505–11.
113. Daniel TM.
The history of tuberculosis. Respir Med 2006;100:1862–70.
114. Billya C, Lévy-Bruhl D.
Vaccin BCG et place de l'intradermoréaction en 2006. Rev Med Interne 2007;28:151–60.
115. Milstien JB, Gibson JJ.
Quality control of BCG vaccine by WHO: a review of factors that may influence vaccine effectiveness and safety. Bull World Health Organ 1990;68:93–108.
116. WHO. Geneva: WHO Press
Issues related to the use of BCG in vaccination programmes.; 1999 [Cited 2014 May 4], available from: http://www.who.int/vaccine_research/documents/en/bcg_vaccines.pdf
117. Gernez-Rieux C, Gervois M.
Protection conférée par le BCG pendant les vingt années suivant la vaccination. Bull World Health Organ 1973;48:139–54.
118. Trébucq A.
La lutte contre la tuberculose dans le monde : résultats et défis. Med Trop 2004;64:587–94.
119. Alimuddin Z, Raviglione M, Hafner et Von Reyn C.
Current concept: tuberculosis. N Engl J Med 2013;368:745–55.
120. N'guessan K, Nahoua I, Aka N, Ekaza E, Aney N, Baudryard A, et al.
Limites de l'examen direct des expectorations dans le dépistage actif de la tuberculose chez 200 candidats à l'émigration aux États-Unis. Bull Soc Pathol Exotique 2006;99:202–3.
121. Groupe de travail du conseil supérieur d'hygiène publique de France.
Prévention et prise en charge de la tuberculose en France. Synthèse et recommandations du groupe de travail du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (2002–2003). Rev Mal Respir 2003;20:51–106.
122. Andrews JR, Noubary F, Walensky RP, Cerda R, Losina E, Horsburgh CR.
*Risk of progression to active tuberculosis following reinfection with *Mycobacterium tuberculosis*. Clin Infect Dis 2012;54:784–91.*

123. WHO. Geneva: WHO Press

Guidelines for intensified tuberculosis case-finding and isoniazid preventive therapy for people living with HIV in resource-constrained settings.; 2011 [Cited 2014 May 4], available from: <http://www.who.int/hiv/pub/tb/9789241500708/en/>

124. Mount FW, Ferebee SH.

Preventive effects of isoniazid in the treatment of primary tuberculosis in children. N Engl J Med 1961;265:713–21.

125. Menzies D, Al Jahdali H, Al Otaibi B.

Recent developments in treatment of latent tuberculosis infection. Indian J Med Res 2011;133:257–66.

126. Comstock GW.

How much isoniazid is needed for prevention of tuberculosis among immunocompetent adults? Int J Tuberc Lung Dis 1999;3:847–50.

127. Ena J, Valls V.

Short-course therapy with rifampin plus isoniazid, compared with standard therapy with isoniazid, for latent tuberculosis infection: a meta-analysis. Clin Infect Dis 2005;40:670–6.

128. Centers for disease control and prevention (CDC).

*Recommendations for use of an isoniazid-rifampin regimen with direct observation to treat latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:1650–3.

129. Zellweger JP.

La tuberculose multirésistante : extension, menace et solutions. Rev Mal Respir 2011;8:1025–33.

130. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, et al.

Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. N Engl J Med 2001;345:1098–104.

131. Afssaps Paris: Afssaps [En ligne],

Prevention et prise en charge des tuberculoses survenant sous anti-TNF available from: <http://www.afssaps.sante.fr> ; 2005 <http://www.afssaps.sante.fr>

132. WHO Geneva: WHO.

Global tuberculosis report 2013. Press; 2013 [Cited 2014 May 4], available from: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/

133. Bartacek A, Schütt D, Panosch B, Borek M, Rimstar®4-FDCStudy Group.
Comparison of a four-drug fixed-dose combination regimen with a single tablet regimen in smear-positive pulmonary tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2009;13:760—6.
134. Tritar F, Daghfous H, Ben Saad S, Slim-Saidi L.
Prise en charge de la tuberculose multirésistante. Rev Pneumol Clin 2015, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneumo.2014.05.001>.
135. WHO.
Treatment of tuberculosis, guidelines. 4th ed. WHO;2010.
136. JP Van Vooren — FARES asbl
Diagnostic et traitement de la tuberculose Manuel pratique Recommandations destinées au corps médical .
137. Geneva: World Health Organization
Antituberculosis drug resistance in the world. Fourth global report.; 2008.
138. Geneva: World Health Organization
The global plan to stop TB, 2006–2015.; 2006 [WHO/HTM/STB/2006.35].
139. Menzies D, Benedetti A, Paydar A, Royce S, Madhukar P, Burman W, et al.
Standardized treatment of active tuberculosis inpatients with previous treatment and/or with mono-resistance to isoniazid: a systematic review and meta-analysis. PloS Med 2009;6 [e1000150].
140. Guide de prise en charge de la tuberculose en Tunisie.
PNLT;2011.
141. Conférence d'experts
Recommandations de la Société de pneumologie de langue franc, aise sur la prise en charge de la tuberculose en France. Société de pneumologie de langue franc, aise. Rev Mal Respir 2004;21:S3—104.
142. Chang KC, Leung CC, Yew WW, Ho SC, Tam CM.
A nested case-control study on treatment-related risk factors for early relapse of tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 2004;170:1124—30.

143. Mwanduba HC, Squire SB.
Fully intermittent dosing with drugs for treating tuberculosis in adults. Cochrane Database Syst Rev 2003.
144. Jindani A, Nunn AJ, Enarson DA.
Two 8-month regimens of chemotherapy for treatment of newly diagnosed pulmonary tuberculosis: international multicentre randomised trial. Lancet 2004;364:1244–51.
145. Manuel de la tuberculose . Ligue pulmonaire suisse.; 2012. p.51.
146. Ellard GA, Humphries MJ, Allen BW.
Cerebrospinal fluid drug concentrations and the treatment of tuberculous meningitis. Am Rev Respir Dis 1993;148:650–5.
147. National Collaborating Centre for chronic conditions.
Tuberculosis: clinical diagnosis and management of tuberculosis, and measures for its prevention and control. London: Royal College of Physicians, NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence); 2006.
148. American Thoracic Society, CDC, Infectious Diseases Society of America.
Treatment of tuberculosis. Morbidity and mortality. Weekly report: recommendations and reports; 2003. p. 1–77[52(RR-11)].
149. Thwaites GE, Nguyen DB, Nguyen HD, Hoang TQ, Do TT, Nguyen TC, et al.
Dexamethasone for the treatment of tuberculous meningitis in adolescents and adults. N Engl J Med 2004;351:1741–51.
150. British Thoracic Research Committee.
Six months versus nine months chemotherapy for tuberculosis of lymph nodes: preliminary results. Respir Med 1992;86:15–9.
151. Campbell IA, Ormerod LP, Friend JA, Jenkins PA, Prescott RJ.
Six months versus nine months chemotherapy for tuberculosis of lymph nodes: final results. Respir Med 1993;87:621–3.
152. Van Loenhout-Rooyackers JH, Laheij RJ, Richter C, Verbeek AL.
Shortening the duration of treatment for cervical tuberculous lymphadenitis. Eur Respir J 2000;15:192–5.

153. Hawkey CR1, Yap T, Pereira J, Moore DA, Davidson RN, Pasvol G, et al.
Characterization and management of paradoxical upgrading reactions in HIV-uninfected patients with lymph node tuberculosis. Clin Infect Dis 2005;40:1368–71.
154. Cheng VC, Ho PL, Lee RA, Chan KS, Chan KK, Woo PC, et al.
Clinical spectrum of paradoxical deterioration during anti-tuberculosis therapy in non-HIV-infected patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002;21:803–9.
155. Janssens JP, Haller RD.
Spinal tuberculosis in a developed country: a review of 26 cases with special emphasis on abscesses and neurologic complications. Clin Orthop Relat Res 1990;257:67–75.
156. Mazza-Stalder J, Nicod L, Janssens JP.
La tuberculose extrapulmonaire. Rev Mal Respir 2012;29:566–78.
157. Ormerod LP, Horsfield N.
Frequency and type of reactions to antituberculosis drugs: observations in routine treatment. Tuber Lung Dis 1996;77:37–42.
158. Saukkonen JJ, Cohn DL, Jasmer RM, Schenker S, Jereb JA, Nolan CM, et al.
An official ATS statement: hepatotoxicity of hepatotoxicity of antituberculosis therapy. Am J Respir Crit Care Med 2006;174:935–52.
159. Ellard GA.
Chemotherapy of tuberculosis for patients with renal impairment. Nephron 1993;64:169–81.
160. Harries A, Maher D, Graham S.
TB/HIV: a clinical manual. 2nd ed; 2004 [Geneva: WHO/HTM/TB/2004.329].
161. Burman WJ, Jones BE.
Treatment of HIV-related tuberculosis in the era of effective antiretroviral therapy. Am J Respir Crit Care Med 2001;164:7–12.
162. Khan FA, Minion J, Pai M, Royce S, Burman W, Harries AD, et al.
Treatment of active tuberculosis in HIV-coinfected patients: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2010;50:1288–99.
163. Abdool Karim SS, Naidoo K, Grobler A, et al.
Timing of initiation of antiretroviral drugs during tuberculosis therapy. N Engl J Med 2010;362:697–706.

164. Breen RA, Smith CJ, Bettinson H, Dart S, Bannister B, Johnson MA, et al.
Paradoxical reactions during tuberculosis treatment in patients with and without HIV co-infection. Thorax 2004;59:704–7.
165. Lawn SD, Bekker LG, Miller RF.
Immune reconstitution disease associated with mycobacterial infections in HIV-infected individuals receiving antiretrovirals. Lancet Infect Dis 2005;5:361–73.
166. Bertolaccini L, Viti A, Di Perri G, Terzi A.
Surgical treatment of pulmonary tuberculosis: the phoenix of thoracic surgery. J Thorac Dis 2013;5:198–9.
167. The WHO/IUATLD Global project on antituberculosis drug resistance surveillance.
Antituberculosis drug resistance in the world; 2008
http://www.who.int/tb/publications/2008/drs_report4_26feb08.pdf
168. Bonnet M, Pardini M, Meacci F, Orru G, Yesilkaya H, Jarosz T, et al.
Treatment of tuberculosis in a region with high drug resistance: outcomes, drug resistance amplification and re-infection. PLoS One 2001;6(8):e23081.
169. Rabah A, Belhabib D, Attia S, Fkih L, Hassene H, Gharbi R, et al.
Les facteurs de risques de la tuberculose multirésistante. Rev Mal Respir 2004;21:96.
170. Robert J, Veziris N.
La résistance aux antituberculeux en France à travers les données des réseaux Azay-Mycobactéries et du Centre de national de référence de mycobactéries. Med Mal Infect 2008;38:S68–70
171. Ouedraogo M, Ouedaogo SM, Diagbougba S, Coulibaly G, Achi V, Damoua K, et al.
Résistance simultanée à la rifampicine et à l'isoniazide chez les malades atteints de tuberculose pulmonaire. Rev Mal Respir 2000;17:477–80.
172. Nafti S, Hammache N, Fillalli F.
Résultats thérapeutiques des 102 cas de tuberculose pulmonaire à bacilles multirésistants. Rev Mal Respir 2004;HS 1:96.
173. Dubovis M
[thèse de doctorat] Les tuberculoses chez l'animal et l'homme : actualités épidémiologique et diagnostique. Université Paul-Sabatier de Toulouse; 2002.

174. Arevalo M, Solera J, Cebrian D, Bartolomé J, Robles P.
Risk factors associated with drug-resistant Mycobacterium tuberculosis in Castilla-la-Mancha (Spain). Eur Respir J 1996;9:274–8.
175. Ruddy M, Balabanova Y, Graham C, Fedorin I, Malomanova N, Elisarova E, et al.
Rates of drug resistance and risk factor analysis in civilian and prison patients with tuberculosis in Samara region, Russia. Thorax 2005;60:130–5.
176. Mdivani N, Zangaladze E, Volkova N, Kourbatova G, Jibuti T, Shubladzae, et al.
High prevalence of multidrug-resistant tuberculosis in Georgia. Int J Infect Dis 2008;12:635–44.
177. Kimerling ME, Slavuckij A, Chavers S, Peremtin GG, Tankel T, Sirotkina O, et al.
The risk of MDR-TB and polyresistant tuberculosis among the civilian population of Tomsk city, Siberia, 1999. Int J Tuberc Lung Dis 2003;7:866–72.
178. [Ministère de la Santé de Tunisie.
Plan stratégique national de lutte contre la tuberculose 2008–2015. Programme national de lutte antituberculeuse; 2008.
179. Stucker D, Basu S, Mckee M, King L.
Mass incarceration can explain population increases in TB and multidrug-resistant TB in European and Central Asian countries. Proc Natl Acad Sci US A 2008;105:13280–5.
180. Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, Boulahbal F, Jae Kim S, Reniero A, et al.
Global trends in resistance to antituberculosis drugs. N Engl J Med 2001;344:1294–303.
181. Ferrara G, Richeldi L, Bugiani M, Crillo D, Besozzi G, Nutini S, et al.
Management of multidrug-resistant tuberculosis in Italy. Int J Tuberc Lung Dis 2005;9:507–13.
182. Gurumurthy P, Ramachandran G, Kumar AKH, Rajasekaran S, Padmapriyadarsini C, Swaminathan S, et al.
Malabsorption of rifampin and isoniazid in HIV-infected patients with and without tuberculosis. Clin Infect Dis 2004;38:280–3.
183. Sandman L, Schluger NW, Davidow AL, Bonk S.
Risk factors for rifampin-mono-resistant tuberculosis. A case-control study. Am J Respir Crit Care Med 1999;159:468–72.
184. Loddenkemper R, Sagebiel A, Brendel A.
Strategies against multidrug-resistant tuberculosis. Eur Respir J 2002;36:66–77.

185. Badri M, Wilson D, Wood R.
Effect of highly active antiretroviral therapy on incidence of tuberculosis in South Africa: a cohort study. Lancet 2002;359:2059–64.
186. Léophonte P, Murris M.
Traitement d'une tuberculose pulmo-naire multirésistante. Presse Med 1998;27:34–40.
187. Perronne C, DeTruchis P.
Tuberculose multirésistante : épidé-miologie, traitement, prévention et recherches diagnostiques. Rev Med Interne 1995;16:547–52.
188. Mtiraoui A, Soltani M, Ghannem H, Letaief M, Zayani R, Hdhiri H, et al.
Épidémiologie de la tuberculose dans le Sahel tunisien. Med Mal Infect 1998;28:199–202.
189. Garcia Vazquez E, Esteban J, de Gorgolas, Fernández Guer-rero ML.
Infection by resistant Mycobacterium tuberculosis in a hospital population. A longitudinal study of incidental cases at the Fundación Jimenez Diaz. Rev Clin Esp 1999;199:564–8
190. Dauendorffer J-N, Guillemin I, Aubry A, Truffot-Pernot C, Sougakoff W, Jarlier V, et al.
Identification of mycobacterial species by PCR sequencing of quinolone resistance-determining regions of DNA gyrase genes. J Clin Microbiol. mars 2003;41(3):1311- 5.
191. Jarlier V, Nikaido H.
Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to antibiotics. FEMS Microbiol Lett. 15 oct 1994;123(1-2):11- 8.
192. Davies J.
Antibiotic resistance in mycobacteria. Novartis Found Symp. 1998;217:195- 205; discussion 205-8.
193. Voladri RK, Lakey DL, Hennigan SH, Menzies BE, Edwards KM, Kernodle DS.
Recombinant expression and characterization of the major beta-lactamase of Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother. juin 1998;42(6):1375- 81.
194. Aínsa JA, Pérez E, Pelicic V, Berthet FX, Gicquel B, Martín C.
Aminoglycoside 2'-N-acetyltransferase genes are universally present in mycobacteria: characterization of the aac(2')-Ic gene from Mycobacterium tuberculosis and the aac(2')-Id gene from Mycobacterium smegmatis. Mol Microbiol. avr 1997;24(2):431-41.

195. Zhang Y, Heym B, Allen B, et al.
The catalase-oxidase gene and isoniazid resistance of Mycobacterium tuberculosis. Nature 1992; 358: 591-593.
196. Zhang Y, Telenti A.
Genetics of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. In: Hatfull G, Jacobs WR, eds. Molecular genetics of mycobacteria. Washington DC, USA: ASM Press, 2000: pp 235-254.
197. Shoeb HA, Bowman BU Jr, Ottolenghi AC, et al.
Peroxidase-mediated oxidation of isoniazid. Antimicrob Agents Chemother 1985; 27: 399-403.
198. Timmins GS, Master S, Rusnak F, et al.
Nitric oxide generated from isoniazid activation by KatG: source of nitric oxide and activity against Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 3006-3009.
199. Rozwarski DA, Grant GA, Barton DH, et al.
Modification of the NADH of the isoniazid target (InhA) from Mycobacterium tuberculosis. Science 1998; 279: 98-102.
200. Rawat R, Whitty A, Tonge PJ.
The isoniazid-NAD adduct is a slow, tight-binding inhibitor of InhA, the Mycobacterium tuberculosis enoyl reductase: adduct affinity and drug resistance. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 13881-13886.
201. Johnsson K, King DS, Schultz PG.
Studies on the mechanism of action of isoniazid and ethionamide in the chemotherapy of tuberculosis. J Am Chem Soc 1995; 117: 5009-5010.
202. Banerjee A, Dubnau E, Quemard A, et al.
inhA, a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in Mycobacterium tuberculosis. Science 1994; 263: 227-230.
203. Argyrou A, Jin L, Siconolfi-Baez L, et al.
Proteome-wide profiling of isoniazid targets in Mycobacterium tuberculosis. Biochemistry 2006; 45: 13947-13953.
204. Winder F.
Mode of action of the antimycobacterial agents and associated aspects of the molecular biology of mycobacteria. In: Ratledge C, Stanford J, eds. The biology of mycobacteria. Vol I. New York, NY, USA: Academic Press, 1982: pp 354-438.

205.Middlebrook G.

Isoniazid resistance and catalase activity of tubercle bacilli. Am Rev Tuberc 1954; 69: 471-472.

206.Hazbon M H, Brimacombe M, Bobadilla del Valle M, et al.

Population genetics study of isoniazid resistance mutations and evolution of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 2640-2649.

207.Heym B, Alzari P M, Honore N, et al.

Missense mutations in the catalase-peroxidase gene, katG, are associated with isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis. Mol Microbiol 1995; 15: 235-245.

208.Deretic V, Philipp W, Dhandayuthapani S, et al.

Mycobacterium tuberculosis is a natural mutant with an inactivated oxidativestress regulatory gene: implications for sensitivity to isoniazid. Mol Microbiol 1995; 17: 889-900.

209.Sherman D R, Sabo P J, Hickey M J, et al.

Disparate responses to oxidative stress in saprophytic and pathogenic mycobacteria. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 6625-6629.

210.Heym B, Stavropoulos E, Honore N, et al.

Effects of overexpression of the alkyl hydroperoxide reductase AhpC on the virulence and isoniazid resistance of Mycobacterium tuberculosis. Infect Immun 1997; 65: 1395-1401.

211.Vilcheze C, Av-Gay Y, Attarian R, et al.

Mycothiol biosynthesis is essential for ethionamide susceptibility in Mycobacterium tuberculosis. Mol Microbiol 2008; 69: 1316-1329.

212.Mitchison D A.

The action of anti-tuberculosis drugs in short course chemotherapy. Tubercle 1985; 66: 219-225.

213.Telenti A, Imboden P, Marchesi F, et al.

Detection of rifampicinresistance mutations in Mycobacterium tuberculosis. Lancet 1993; 341: 647-650.

214.Bodmer T, Zurcher G, Imboden P, et al.

Mutation position and type of substitution in the beta-subunit of the RNA polymerase influence in-vitro activity of rifamycins in rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis. J Antimicrob Chemother 1995; 35: 345-348.

215. Williams D L, Spring L, Collins L, et al.

Contribution of rpoB mutations to development of rifampicin cross-resistance in Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 1853-1857.

216. Nakamura M, Harano Y, Koga T.

[Isolation of a strain of M. tuberculosis which is considered to be rifampicin-dependent, from a patient with long-lasting smear positive and culture diffi cult (SPCD) mycobacteria]. Kekkaku 1990; 65: 569-574. [Japanese]

217. Zhong M, Wang Y, Sun C, et al.

[Growth of rifampin-dependent Mycobacterium tuberculosis in conditions without rifampin]. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi 2002; 25: 588-590. [Chinese]

218. Tarshis M S, Weed W A Jr.

Lack of significant in vitro sensitivity of Mycobacterium tuberculosis to pyrazinamide on three different solid media. Am Rev Tuberc 1953; 67: 391-395.

219. McDermott W, Tompsett R.

Activation of pyrazinamide and nicotinamide in acidic environment in vitro. Am Rev Tuberc 1954; 70: 748-754.

220. Zhang Y, Mitchison D.

The curious characteristics of pyrazinamide: a review. Int J Tuberc Lung Dis 2003; 7: 6-21.

221. Wade M M, Zhang Y.

Anaerobic incubation conditions enhance pyrazinamide activity against Mycobacterium tuberculosis. J Med Microbiol 2004; 53: 769-773.

222. Wade M M, Zhang Y.

Effects of weak acids, UV and proton motive force inhibitors on pyrazinamide activity against Mycobacterium tuberculosis in vitro. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 936-941.

223. Zhang Y, Wade M M, Scorpio A, et al.

Mode of action of pyrazinamide: disruption of Mycobacterium tuberculosis membrane transport and energetics by pyrazinoic acid. J Antimicrob Chemother 2003; 52: 790-795.

224. Scorpio A, Zhang Y.

Mutations in pncA, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus. Nat Med 1996; 2: 662-667.

225. Zhang Y, Scorpio A, Nikaido H, et al.
Role of acid pH and deficient efflux of pyrazinoic acid in unique susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to pyrazinamide. J Bacteriol 1999; 181: 2044-2049.
226. Zimhony O, Cox J S, Welch J T, et al.
Pyrazinamide inhibits the eukaryotic-like fatty acid synthetase I (FASI) of Mycobacterium tuberculosis. Nat Med 2000; 6: 1043-1047.
227. Boshoff H I, Mizrahi V, Barry C E III.
Effects of pyrazinamide on fatty acid synthesis by whole mycobacterial cells and purified fatty acid synthase I. J Bacteriol 2002; 184: 2167-2172.
228. Zhang Y, Mitchison D.
The curious characteristics of pyrazinamide: a review. Int J Tuberc Lung Dis 2003; 7: 6-21.
229. Konno K, Feldmann F M, McDermott W.
Pyrazinamide susceptibility and amidase activity of tubercle bacilli. Am Rev Respir Dis 1967; 95: 461-469.
230. Scorpio A, Lindholm-Levy P, Heifets L, et al.
Characterization of pncA mutations in pyrazinamide-resistant Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 540-543.
231. Cheng S J, Thibert L, Sanchez T, et al.
pncA mutations as a major mechanism of pyrazinamide resistance in Mycobacterium tuberculosis: spread of a monoresistant strain in Quebec, Canada. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 528-532.
232. Louw G E, Warren R M, Donald P R, et al.
Frequency and implications of pyrazinamide resistance in managing previously treated tuberculosis patients. Int J Tuberc Lung Dis 2006; 10: 802-807.
233. Sreevatsan S, Pan X, Zhang Y, et al.
Mutations associated with pyrazinamide resistance in pncA of Mycobacterium tuberculosis complex organisms. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 636-640.

234. Mestdagh M, Fonteyne P A, Realini L, et al.

Relationship between pyrazinamide resistance, loss of pyrazinamidase activity, and mutations in the pncA locus in multidrug-resistant clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 2317-2319

235. Lemaitre , Sougakoff W, Truffot-Pernot C, et al.

Characterization of new mutations in pyrazinamide-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis and identification of conserved regions important for the catalytic activity of the pyrazinamidase PncA. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 1761-1763.

236. Portugal I, Barreiro L, Moniz-Pereira J, et al.

pncA mutations in pyrazinamide-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates in Portugal. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 2736- 2738.

237. Marttila H J, Marjamaki M, Vyshnevskaya E, et al.

pncA mutations in pyrazinamide-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from northwestern Russia. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 1764-1766.

238. Takayama K, Kilburn J.

Inhibition of synthesis of arabinogalactan by ethambutol in Mycobacterium smegmatis. Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 1493-1499.

239. Mikusov K, Slayden R, Besra G, et al.

Biogenesis of the mycobacterial cell wall and the site of action of ethambutol. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 2484-2489.

240. Wolucka B, McNeil M, de Hoffmann E, et al.

Recognition of the lipid intermediate for arabinogalactan/arabinomannan biosynthesis and its relation to the mode of action of ethambutol on mycobacteria. J Biol Chem 1994; 269: 23328-23335.

241. Telenti A, Philipp W J, Sreevatsan S, et al.

The emb operon, a unique gene cluster of Mycobacterium tuberculosis involved in resistance to ethambutol. Nature Med 1997; 3: 567-570.

242. Belanger A, Besra G, Ford M, et al.

The embAB genes of Mycobacterium avium encode an arabinosyl transferase involved in cell wall arabinan biosynthesis that is the target for the antimycobacterial drug ethambutol. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 11919-11924.

243. Ramaswamy S V, Amin A G, Goksel S, et al.

Molecular genetic analysis of nucleotide polymorphisms associated with ethambutol resistance in human isolates of Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 326-336.

244. Sreevatsan S, Stockbauer K, Pan X, et al.

Ethambutol resistance in Mycobacterium tuberculosis: critical role of embB mutations. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 1677-1681.

245. Mokrousov I, Otten T, Vyshnevskiy B, et al.

Detection of embB306 mutations in ethambutol-susceptible clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis from northwestern Russia: implications for genotypic resistance testing. J Clin Microbiol 2002; 40: 3810-3813.

246. Perdigao J, Macedo R, Ribeiro A, et al.

Genetic characterization of the ethambutol resistance-determining region in Mycobacterium tuberculosis: prevalence and significance of embB306 mutations. Int J Antimicrob Agents 2009; 33: 334-338.

247. Hazbon M H, Bobadilla del Valle M, Guerrero M I, et al.

Role of embB codon 306 mutations in Mycobacterium tuberculosis revisited: a novel association with broad drug resistance and IS6110 clustering rather than ethambutol resistance. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 3794-3802.

248. Shi R, Zhang J, Otomo K, et al.

Lack of correlation between embB mutation and ethambutol MIC in Mycobacterium tuberculosis clinical isolates from China. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 4515-4517.

249. Parsons L M, Salinger M, Clobridge A, et al.

Phenotypic and molecular characterization of Mycobacterium tuberculosis isolates resistant to both isoniazid and ethambutol. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 2218-2225.

250. Safi H, Sayers B, Hazbon M H, et al.

Transfer of embB codon 306 mutations into clinical Mycobacterium tuberculosis strains alters susceptibility to ethambutol, isoniazid, and rifampin. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 2027-2034.

251. Alcaide F, Pfyffer G E, Telenti A.

Role of embB in natural and acquired resistance to ethambutol in mycobacteria. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 2270-2273.

252. Heifets L, Desmond E.
Clinical mycobacteriology laboratory. In: Cole S, Eisenach K, McMurray D, Jacobs W Jr, eds. Tuberculosis and the tubercle bacillus. Washington DC, USA: ASM Press, 2005: pp 49-70.
253. Davies J, Gorini L, Davis B.
Misreading of RNA codewords induced by aminoglycoside antibiotics. Mol Pharmacol 1965; 1: 93-106.
254. Finken M, Kirschner P, Meier A, et al.
Molecular basis of streptomycin resistance in Mycobacterium tuberculosis: alterations of the ribosomal protein S12 gene and point mutations within a functional 16S ribosomal RNA pseudoknot. Mol Microbiol 1993; 9: 1239-1246.
255. Nair J, Rouse D A, Bai G H, et al.
The rpsL gene and streptomycin resistance in single and multiple drug-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis. Mol Microbiol 1993; 10: 521- 527.
256. Cooksey R C, Morlock G P, McQueen A, et al.
Characterization of streptomycin resistance mechanisms among Mycobacterium tuberculosis isolates from patients in New York City. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 1186-1188.
257. Okamoto S, Tamaru A, Nakajima C, et al.
Loss of a conserved 7-methylguanosine modification in 16S rRNA confers low-level streptomycin resistance in bacteria. Mol Microbiol 2007; 63: 1096-1106.
258. Spies F S, da Silva P E, Ribeiro M O, et al.
Identification of mutations related to streptomycin resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis and possible involvement of efflux mechanism. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 2947-2949.
259. Alangaden G, Kreiswirth B, Aouad A, et al.
Mechanism of resistance to amikacin and kanamycin in Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 1295- 1297.
260. Suzuki Y, Katsukawa C, Tamaru A, et al.
Detection of kanamycin-resistant Mycobacterium tuberculosis by identifying mutations in the 16S rRNA gene. J Clin Microbiol 1998; 36: 1220-1225.

261. Maus C E, Plikaytis B B, Shinnick T M.
Mutation of tlyA confers capreomycin resistance in Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 571-577.
262. Maus C E, Plikaytis B B, Shinnick T M.
Molecular analysis of cross-resistance to capreomycin, kanamycin, amikacin, and viomycin in Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 3192-3197.
263. Drlica K, Malik M.
Fluoroquinolones: action and resistance. Curr Top Med Chem 2003; 3: 249-282.
264. Takiff H, Salazar L, Guerrero C, et al.
Cloning and nucleotide sequence of Mycobacterium tuberculosis gyrA and gyrB genes and detection of quinolone resistance mutations. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 773-780.
265. Lee A S, Tang L L, Lim I H, et al.
Characterization of pyrazinamide and ofl oxacin resistance among drug resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from Singapore. Int J Infect Dis 2002; 6: 48-51.
266. Cheng A F, Yew W W, Chan E W, et al.
Multiplex PCR amplimer conformation analysis for rapid detection of gyrA mutations in fl uoroquinolone-resistant Mycobacterium tuberculosis clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 596-601.
267. Sun Z, Zhang J, Zhang X, et al.
Comparison of gyrA gene mutations between laboratory-selected ofl oxacin-resistant Mycobacterium tuberculosis strains and clinical isolates. Int J Antimicrob Agents 2008; 31: 115-121.
268. [Alangaden G J, Manavathu E K, Vakulenko S B, et al.
Characterization of fl uoroquinolone-resistant mutant strains of Mycobacterium tuberculosis selected in the laboratory and isolated from patients. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1700-1703.
269. Sulochana S, Narayanan S, Paramasivan C N, et al.
Analysis of fl uoroquinolone resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis from India. J Chemother 2007; 19: 166- 171.

270.Sreevatsan S, Pan X, Stockbauer K E, et al.

Restricted structural gene polymorphism in the Mycobacterium tuberculosis complex indicates evolutionarily recent global dissemination. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 9869–9874.

271.Matrat S, Veziris N, Mayer C, et al.

Functional analysis of DNA gyrase mutant enzymes carrying mutations at position 88 in the A subunit found in clinical strains of Mycobacterium tuberculosis resistant to fl uoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 4170–4173.

272.Pitaksajakul P, Wongwit W, Punprasit W, et al.

Mutations in the gyrA and gyrB genes of fl uoroquinolone-resistant Mycobacterium tuberculosis from TB patients in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005; 36 Suppl 4: 228–237.

273.Wang J Y, Lee L N, Lai H C, et al.

Fluoroquinolone resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates: associated genetic mutations and relationship to antimicrobial exposure. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 860–865.

274.Kocagoz T, Hackbarth C, Unsal I, et al.

Gyrase mutations in laboratory selected, fl uoroquinolone-resistant mutants of Mycobacterium tuberculosis H37Ra. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 1768–1774.

275.Zhou J, Dong Y, Zhao X, et al.

Selection of antibiotic-resistant bacterial mutants: allelic diversity among fl uoroquinolone resistant mutations. J Infect Dis 2000; 182: 517–525.

276.van Doorn H R, An D D, de Jong M D, et al.

Fluoroquinolone resistance detection in Mycobacterium tuberculosis with locked nucleic acid probe real-time PCR. Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12: 736–742.

277.Antonova O V, Gryadunov D A, Lapa S A, et al.

Detection of mutations in Mycobacterium tuberculosis genome determining resistance to fl uoroquinolones by hybridization on biological microchips. Bull Exp Biol Med 2008; 145: 108–113.

278.Hegde S S, Vetting M W, Roderick S L, et al.

A fl uoroquinolone resistance protein from Mycobacterium tuberculosis that mimics DNA. Science 2005; 308: 1480–1483.

279. Pasca M R, Gugliera P, Arcesi F, et al.
Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c, an ABC flavoquinolone efflux pump in Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 3175-3178.
280. DeBarber A, Mdluli K, Bosman M, et al.
Ethionamide activation and sensitivity in multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97: 9677-9682.
281. Baulard A, Betts J, Engohang-Ndong J, et al.
Activation of the pro-drug ethionamide is regulated in mycobacteria. J Biol Chem 2000; 275: 28326-28331.
282. Vannelli T, Dykman A, Ortiz de Montellano P.
The anti-tuberculosis drug ethionamide is activated by a flavoprotein monooxygenase. J Biol Chem 2002; 277: 12824-12829.
283. Trnka L. Thiosemicarbazones. In: Bartmann K, ed.
Antituberculosis drugs. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1988: pp 92-103.
284. Falzon D, Jaramillo E, Schünemann HJ, Arentz M, Bauer M, Bayona J, et al.
WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: 2011 update. Eur Respir J 2011; 38: 516-28.
285. Organisation Mondiale de la Santé.
Principes directeurs à l'intention des programmes antituberculeux pour la prise en charge des tuberculoses pharamaco-résistantes. Mise à jour d'urgence pour 2008. Genève: WHO; 2008.
286. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al.
Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. N Engl J Med 2010; 363: 1005-15.
287. Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, Michael JS, Gotuzzo E, Tahirli R, et al.
Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralized use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. Lancet 2011; 377: 1495-505.
288. World Health Organization.
Tuberculosis diagnostics Xpert MTB/RIF Test. WHO endorsement and recommendations. WHO; 2012.

289. Organisation mondiale de la santé.

Conditions à remplir dans les pays pour la mise en oeuvre du système Xpert MTB/RIF et actions essentielles à ce niveau; 2011 [WHO/HTM/TB/12].

290. World Health Organization.

Towards universal access to diagnosis and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis by 2015: WHO progress report; 2011 [WHO/HTM/TB/2011/3].

291. World Health Organization.

Definitions and reporting framework for tuberculosis 2013 revision; 2013 www.who.int

292. Velayati AA, Masjedi MR, Farnia P, Tabarsi P, Ghanavi J, Ziazarifi AH, et al.

Emergence of new forms of totally drug-resistant tuberculosis bacilli: super extensively drug-resistant tuberculosis or totally drug-resistant strains in Iran. Chest 2009;136:420–5.

293. Migliori GB, Centis R, D'Ambrosio L, Spanevello A, Borroni E, Cirillo DM, et al.

Totally drug-resistant and extremely drug-resistant tuberculosis: the same disease? Clin Infect Dis 2012;54:1379–80.

294. Caminero JA, Van Deun A, Monedero I, Rieder HL, Heldal E, Alarcón E, et al.

Guidelines for Clinical and Operational Management of drug-resistant tuberculosis. International Union against Tuberculosis and Lung Disease; 2013. p. 27–159.

295. Caminero JA.

Management of multidrug-resistant tuberculosis and patients in retreatment. Eur Respir J 2005;25:928–36.

296. Diacon AH, Dawson R, von Groote-Bidlingmaier F, Symons G, Venter A, Donald PR, et al.

14-day bactericidal activity of PA-824, bedaquiline, pyrazinamide, and moxifloxacin combinations: a randomised trial. Lancet 2012;380:986–93.

297. Antoun F, Verizis N.

Gestion des tuberculoses multirésistantes. Rev Mal Resp 2011;28:956–7.

298. Chan ED, Laurel V, Strand MJ, Chan JF, Huynh ML, Goble M, et al.

Treatment and outcome analysis of 205 patients with multidrug-resistant tuberculosis. Am J Resp Crit Care Med 2004;169:1103–9.

299. Orenstein EW, Basu S, Shah NS, Andrews JR, Friedland GH, Moll AP, et al.
Treatment outcomes among patients with multidrug-resistant tuberculosis: systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis 2009;96:153–61.
300. Van Deun A, Maug AK, Salim MA, Das PK, Sarker MR, Daru P, et al.
Short, highly effective, and inexpensive standardised treatment of multidrug tuberculosis. Am J Resp Crit Care Med 2010;182:684–92.
301. Mitchison DA ;
Role of individual drugs in the chemotherapy of tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2000 ; 4 : 796–806.
302. ATS CDC IDSA ;
Official joint statement on treatment of tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 2003 ; 167 : 603–62.
303. Bastian I, Colebunders R ;
Treatment and prevention of multidrug-resistant tuberculosis. Drugs 1999 ; 58 : 633–61.
304. Vernon A, Burman W, Benator D, Khan A, Bozeman L :
Acquired rifampicin monoresistance in patients with HIV-related tuberculosis treated with once-weekly rifapentine and isoniazide. Tuberculosis Trials Consortium. Lancet 1999 ; 353 : 1843–7.
305. Bodmer T, Zürcher G, Imboden I, Telenti A
*Molecular basis of rifabutin susceptibility in rifampicin-resistant *M. tuberculosis*. J Antimicrob Chemother 1995 ; 35 : 345–8.*
306. Leung EC, Leung CC, Kam KM, Yew WW, Chang KC, Leung WM, et al.
Transmission of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in a metropolitan city. Eur Respir J 2013;41:901–8.
307. Cain KP, Nelson LJ, Cegielsky JP.
Global policies and practices for managing persons exposed to multidrug-resistant tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2010;14:269–74.
308. Bayona J, Chavez-Pachas AM, Palacios E, Llaro K, Sapag R, Becerra MC.
Contact investigations as a means of detection and timely treatment of persons with infectious multidrug-resistant tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2003;7:5501–9.

309. Schaaf HS, Van Rie A, Gie RP, Beyers N, Victor TC, Van Hel-den PD, et al.
Transmission of multidrug-resistant tuberculosis. Pediatr Infect Dis J 2000;19:695–9.
310. World Health Organization.
Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. 2011 update; 2011.
311. Schaaf HS, et al.
Evaluation of young children in contact with adult multidrug-resistant pulmonary tuberculosis: a 30-month follow-up. Paediatrics 2002;109:765–71.
312. Organisation mondiale de la santé.
Tuberculosis infection-control in the era of expanding HIV care and treatment. Addendum to Guidelines for the prevention of tuberculosis in health care facilities in resource-limited settings. Genève, Suisse: OMS; 2007 [WHO/TB/99.269.ADD].
313. Caminero JA.
Multidrug-resistant tuberculosis: epidemiology risk factors case findings. Int J Tuberc Lung Dis 2010;14:382–90.
314. M.L. MUNANG , M. KARIUKI and M. DEDICOAT .
Isoniazid-resistant tuberculosis in Birmingham, United Kingdom, 1999–2010 . Q J Med 2015; 108:19–25 doi:10.1093/qjmed/hcu139 Advance Access Publication 2 July 2014
315. Zufan Bedewi Omer, Yalemtehay Mekonnen , Adane Worku , Aboma Zewde , Girmay Medhin , Temesgen Mohammed et al .
Evaluation of the GenoType MTBDRplus assay for detection of rifampicin- and isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates in central Ethiopia . International Journal of Mycobacteriology 5 (2016) 475 –481
316. O. Abdelhadi · J. Ndokaïn · M. Moussa Ali · V. Friocourt · E. Mortier · B. Heym .
Étude de la résistance de Mycobacterium tuberculosis chez les patients bacillifères au Tchad . Bull. Soc. Pathol. Exot. (2012) 105:16–22 DOI 10.1007/s13149-011-0186-9
317. Uçar E, Kiliç A, Ceyhan I, Yılmaz S, Kiliç S, Tarhan G, et al.
Resistance rates to major anti-tuberculosis drugs in Mycobacterium tuberculosis strains isolated from seven different regions of Turkey in 2003–2006 period . Mikrobiyol Bul. 2010 Jan;44(1):11–9.

318. Baykal ES, Güdücüoğlu H, Yaman G, Berktaş M.
Mycobacterium tuberculosis strains isolated from Van region four different sensitivity detection method antimycobacterial agents . *Tuberk Toraks*. 2014;62(2):122–30.
319. B. Chevalier, J. Margery, M. Sane. Camara, N. Lefebvre, M. Gueye, M. Thiamc, et al .
Épidémiologie de la résistance de Mycobacterium tuberculosis aux antituberculeux à l'hôpital principal de Dakar. Étude rétrospective sur quatre ans (2000—2003). Revue de Pneumologie clinique (2010) 66, 266—271
320. Desikan P, Panwalkar N , Mirza SB , Chaturvedi A , Ansari K, Varathe R, et al .
Line probe assay for detection of Mycobacterium tuberculosis complex: An experience from Central India. Indian J Med Res. 2017 Jan;145(1):70–73. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_831_14.
321. Saif Alfaresi M, Hag–Ali M.
Susceptibility Pattern and Epidemiology of Mycobacterium tuberculosis in United Emirati Hospital. Open Microbiol J. 2010 Mar 8;4:1–4. doi: 10.2174/1874285801004010001.
322. Almeida Da Silva PE, Palomino JC.
Molecular basis and mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: classical and new drugs. J Antimicrob Chemother 2011; 66: 1417–1430
- 323.] Traore H, Fissette K, Bastian I, et al.
Detection of rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates from diverse countries by a commercial line probe assay as an initial indicator of multidrug resistance. Int J Tuberc Lung Dis 2000; 4: 481–484
324. M Tadesse et al.
Xpert MTB/RIF for rapid detection of rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis from pulmonary tuberculosis patients in Southwest Ethiopia. Int. J. Mycobacteriol. (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.09.002>
325. Abraham Alabi, Francis Foguim, Jeyaraj Sankarganesh, Ellen Bruske, Arnault Mfoumbi, Chester Evyann et al .
COMPARATIVE EVALUATION OF GENOTYPE MTBDRPLUS VERSION 2 AND GENE XPERT MTB/RIF ASSAYS TO DETECT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS AND RESISTANCE GENE PATTERNS IN GABON. 10.1136/bmjgh-2016-000260.15 Published 12 February 2017
326. Jyoti Arora , Ritu Singhal , Ajoy Kumar Verma , Gavish Kumar, Manpreet Bhalla , Rohit Sarin , et al
Isoniazid resistance among rifampicin-susceptible Mycobacterium tuberculosis isolates from tuberculosis patients . International Journal of Mycobacteriology 5 (2016) S 127 –S128

327. WANG Sheng Fen, ZHOU Yang, PANG Yu, ZHENG Hui Wen, and ZHAO Yan Lin.
Prevalence and Risk Factors of Primary Drug-Resistant Tuberculosis in China . Biomed Environ Sci, 2016; 29(2): 91-98
328. E. V. Kurbatova, J. S. Cavanaugh, N. S. Shah, A. Wright, H. Kim, B. Metchock, et al .
Rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis : susceptibility to isoniazid and other anti-tuberculosis drugs » Int J Tuberc Lung Dis 2012; 16(3): 355-357.
<http://dx.doi.org/10.5588/ijtld.11.0542>
329. S. E. Smith, E. V. Kurbatova, J. S. Cavanaugh, J. P. Cegielski .
Global isoniazid resistance patterns in rifampin-resistant and rifampin-susceptible tuberculosis . INT J TUBERC LUNG DIS 16(2):203-205 © 2011 The Union
<http://dx.doi.org/10.5588/ijtld.11.0445> Published online 2 December 2011
330. V. Drouillon , F. Houriez, M. Buze, P. Lagrange, J.-L. Herrmann .
Automated RNA amplification for the rapid identification of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens . Pathologie Biologie 54 (2006) 518-522
[doi:10.1016/j.patbio.2006.07.041](https://doi.org/10.1016/j.patbio.2006.07.041)
331. Awa Ba Diallo , Abdoukader Issifi Kollo, Makhtar Camara , Seynabou Lo , Gedeon Walbang Ossoga , Moustapha Mbow , et al.
Performance of GeneXpert MTB / RIF® in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis in Dakar: 2010-2015. Pan African Medical Journal. 2016; 25:129 doi:10.11604/pamj.2016.25.129.10065
332. Catharina C. Boehme, M.D., Pamela Nabeta, M.D., Doris Hillemann, Ph.D., Mark P. Nicol, Ph.D. et al,
Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance . N Engl J Med 2010; 363:1005-1015 September 9, 2010 DOI: 10.1056/NEJMoa0907847
333. Sabine Hofmann-Thiel , Nikolay Molodtsov , Uladzimir Antonenka , Harald Hoffmann.
Evaluation of the Abbott RealTime MTB and RealTime MTB INH/RIF assays for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex and resistance markers in respiratory and extra-pulmonary specimens . JCM Accepted Manuscript Posted Online 12 October 2016 J. Clin. Microbiol. doi:10.1128/JCM.01144-16 Copyright © 2016, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.
334. Smith CM , Trienekens SC , Anderson C , Lalor MK , Brown T , Story A , et al.
Twenty years and counting: epidemiology of an outbreak of isoniazid-resistant tuberculosis in England and Wales, 1995 to 2014. Euro Surveill_ 2017 Feb 23;22(8). pii: 30467. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.8.30467.

335. Adithya Cattamanchi, MD, Raymund B. Dantes, MD, MPH, John Z. Metcalfe, MD, et al
Clinical Characteristics and Treatment Outcomes of Isoniazid Mono-Resistant Tuberculosis .
Published in final edited form as: Clin Infect Dis. 2009 January 15; 48(2): 179-185.
doi:10.1086/595689.
336. Hoopes AJ, Kammerer JS, Harrington TA, Ijaz K, Armstrong LR.
Isoniazid-monoresistant tuberculosis in the United States, 1993 to 2003. Arch Intern Med. 2008
Oct 13;168(18):1984-92. doi: 10.1001/archinte.168.18.1984.

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف

والأحوال باذلة وسعي في إنقاذها من الهلاك والمرض

والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.

وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلة رعايتي الطبية للقريب والبعيد،

للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.

وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرني، وأكون أختاً لكل زميل في المهنة

الطبية متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سري وعلانيتي، نقيّة مما يشينها تجاه

الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيدا

أطروحة رقم 100

سنة 2017

دراسة جزيئية لمقاومة عصيات مركب المتفطرات السلية للإيزونيازيد

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 28 /06 /2017

من طرف

الآنسة : لبنى الطيبي

المزودة في 17 أكتوبر 1990 بالقصيبة بني ملال

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

المتفطرات السلية – مقاومة - إيزونيازيد

اللجنة

الرئيس

س. أمال

السيد

أستاذ في أمراض الجلد

المشرف

س. الزوهير

السيد

أستاذ في علم البكتيريا والفيروسات

ل. أرسلان

السيدة

أستاذة في علم البكتيريا والفيروسات

ن. صراع

السيدة

أستاذة مبرزة في علم البكتيريا والفيروسات

ح.أ. بنجلون

السيد

أستاذ مبرز في أمراض الرئة

الحكام