



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

Année 2017

Thèse N° 99

**Etude moléculaire de la résistance à la
rifampicine des bacilles du complexe
*Mycobacterium tuberculosis***

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 28 /06 /2017

PAR

M^{lle}.TIMOUYAS Yasmine

Née Le 1 Septembre 1991 à Casablanca

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES

Mycobacterium tuberculosis- Résistance à la rifampicine- Etude moléculaire

JURY

M.	S. AMAL Professeur de Dermatologie	PRESIDENT
M.	S. ZOUHAIR Professeur de Microbiologie-Virologie	RAPPORTEUR
M^{me}.	L. ARSALANE Professeur de Microbiologie-Virologie	} JUGES
M^{me}.	N. SORAA Professeur agrégé de Microbiologie	
M.	H.A. BENJELLOUN Professeur agrégé de Pneumologie	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ

الْحَكِيمُ ﴿٣٢﴾

صَدِّقَ قَوْلِ اللَّهِ الْعَظِيمِ

(سورة البقرة)



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.

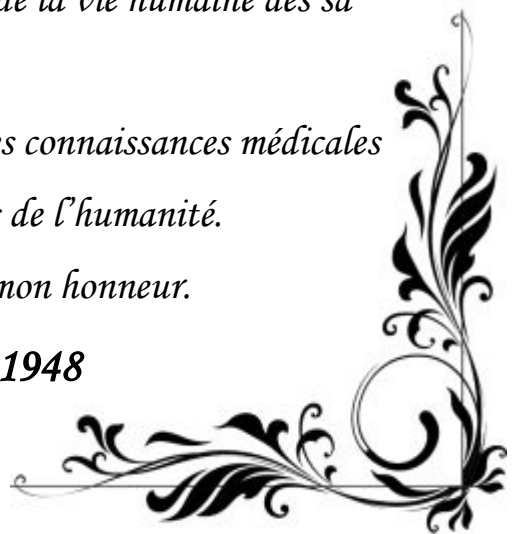
Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

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.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948





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	FOURAJI 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

BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BOUAÏTY 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	Ophtalmologie
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- ptisiologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
BAHA ALI Tarik	Ophtalmologie	LAKMICHY 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
BELKHOU 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- ptisiologie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique B	QACIF Hassan	Médecine interne
BOURRAHOUEAT Aicha	Pédiatrie B	QAMOUISS 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	Ophthalmologie	MOUHADI Khalid	Psychiatrie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo- phtisiologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie (Neonatologie)	MOUNACH Aziza	Rhumatologie
BOUCHAMA Rachid	Chirurgie générale	MOUZARI Yassine	Ophthalmologie
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	OUEIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
DIFFAA Azeddine	Gastro- entérologie	RHARRASSI Isam	Anatomie-pathologique
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 EI 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- embyologie 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



DEDICACES



' 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 ...



A

mon très cher père Saïd

Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines et ta persévérance.

Tu m'as appris, le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité.

Ta bonté et ta générosité extrêmes sont sans limites.

Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, ma considération et l'amour éternel pour les sacrifices que tu m'as consenti pour mon éducation et mon bien être.

Je souhaite que cette thèse t'apporte la joie de voir aboutir tes espoirs et j'espère avoir été digne de ta confiance.

Puisse Dieu te garder et te procurer santé et longue vie. Ameen

A

ma très chère mère Saadia Mofarir

Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon amour et mon affection.

A toi maman, je dédie ce travail, que sans ton soutien, ton amour, n'aurait pu voir le jour.

Tes prières ont été pour moi un grand soutien moral au long de mes études.

Veillez trouver, chère mère, dans ce travail le fruit de ton dévouement et de tes sacrifices ainsi que l'expression de ma gratitude et mon profond amour.

Puisse Dieu te préserver des malheurs de la vie et te procurer longue vie. Ameen



A

mes très chères sœurs : Meriem et Sakina

Je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous. Je vous remercie énormément et j'espère que vous trouverez dans cette thèse l'expression de mon affection pour vous. Je vous souhaite un avenir florissant et une vie pleine de bonheur, de santé et de prospérité.

Que Dieu vous protège et consolide les liens sacrés qui nous unissent. Ameen

A

mes très chers frères : Nabil et Tarik

Aucune parole ne peut être dite à sa juste valeur pour exprimer tout le respect et l'amour que je vous porte. Vous m'avez toujours donné de votre temps, de votre énergie . C'est certainement grâce à vous que je suis là maintenant. Je vous souhaite tout le bonheur du monde, une vie pleine de sérénité et d'amour. Ameen

A tous les membres de ma famille

TIMOUYAS & MOFARIR

petits et grands

Veillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien, encouragements, et affection.

J'espère que vous trouverez à travers ce travail, le témoignage de mes sentiments sincères et de mes vœux de santé et de bonheur.

Que Dieu le tout puissant, vous protège et vous garde. Ameen



A mes chers amis

A : Sara Ayassi ; Sara Belabyad ; Karima Benjouad ; Layla Bendaoud ;

Leïla Elrazi ; Hajar Joulal ; Njat Lasri ; Hanan Mohib ;

Amal Ouyad ; Loubna Tayebi ; Maryem Tarmidi ; Nidal Yaakoubi ;

Imane Yafi ; Sara Zahid ; Fyrouz Zemde

*Chaque instant en votre présence à mes côtés se transformait
spontanément en un agréable souvenir.*

*Vous étiez toujours là à mes côtés dans les moments les plus difficiles de
toute ma vie -chacun à sa manière- vous continuez à me prouver chaque
instant que j'ai des vrais frères et sœurs sur lesquelles je peux toujours
compter.*

A mes enseignants :

Oussama Laaroussi ; Jaouad Bachikhi ; Mohamed Jaamoud

*Aucune dédicace ne saurait exprimer le respect et la reconnaissance pour tous
vostres sacrifices consentis à ma formation, mon instruction et mon bien être. Puisse
Dieu tout puissant vous procure santé, bonheur et longue vie.*



A toute ma promotion,

*A tous mes amis et collègues de la
Faculté de Médecine de Marrakech*

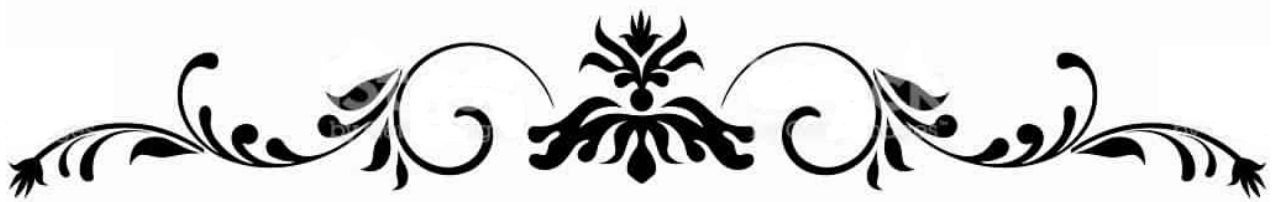
*A tous mes professeurs et maîtres
qui m'ont imbibé de leur Savoir*

Au personnel du laboratoire de microbiologie de HMA et de CDTMR

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

*A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration
de ce travail*

*A tous les tuberculeux du Maroc, de l'Afrique, du monde et à tous
ceux qui œuvrent pour une meilleure prise en charge des tuberculeux,
courage et gardons espoir.*



REMERCIEMENTS





A ALLAH

*Le tout miséricordieux, Le tout puissant,
Qui m'a inspiré,
Qui m'a guidé sur le droit chemin,
Je vous dois ce que je suis devenu,
Soumission, louanges et remerciements,
Pour votre clémence et miséricorde.*



A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE :

Professeur Saïd Amal

Professeur de Dermatologie

*Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant aimablement la
présidence de notre jury.*

*Vos qualités professionnelles nous ont beaucoup marqués mais encore plus
votre gentillesse et votre sympathie. Veuillez accepter, cher maître, dans
ce travail nos sincères remerciements et toute la reconnaissance que nous
vous témoignons.*

A

Notre Maître et Rapporteur de thèse

Monsieur le professeur Saïd Zouhair

Professeur de Microbiologie-Virologie

*Vous nous avez confié ce travail sans aucune réserve. Nous
souhaitons être digne de cet honneur.*

*Vous nous avez guidé tout au long de notre travail en nous
apportant vos précieux et pertinents conseils.*

*Nous vous remercions pour votre patience et votre soutien
lors de la réalisation de cette thèse.*

*Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse
considération et notre profonde admiration pour toutes vos
qualités scientifiques et humaines.*



A

Notre Maître et Juge de thèse

Professeur Lamiae Arsalane

Professeur de Microbiologie-Virologie

*Ce fut pour moi, un honneur et un grand plaisir d'avoir préparé ma thèse
sous votre guidance et nul mot ne qualifie ma gratitude.*

*Je vous prie de bien vouloir trouver dans ce travail le témoignage de ma
reconnaissance et de mes sentiments les meilleurs.*

A

Notre Maître et Juge de thèse

Professeur Nabila Soraa

Professeur agrégé de Microbiologie

C'est pour nous un grand honneur de vous voir siéger dans notre jury.

*Nous vous sommes très reconnaissants de la spontanéité et de L'amabilité
avec lesquelles vous avez accepté de juger notre travail.*

*Veillez trouver, chère Maître, le témoignage de notre grande
Reconnaissance et de notre profond respect*



A

Notre Maître et Juge de thèse

Professeur Harzimi Amine Benjelloun

Professeur agrégé de pneumologie

Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous

faites en acceptant de siéger parmi notre jury de thèse.

Puisse ce travail témoigner de ma reconnaissance et de

l'estime que je porte à votre personne.

Veillez croire à nos sincères remerciements.

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.

*A tous nos enseignants de la faculté
de médecine de Marrakech*

Une thèse est le fruit de plusieurs années d'études

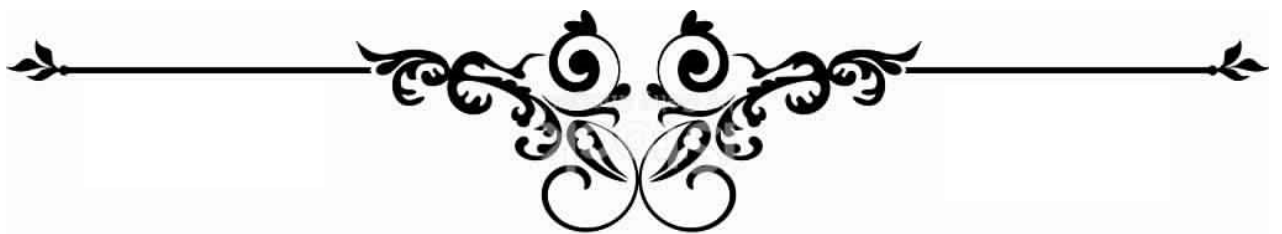
et on ne saurait oublier dans mes dédicaces l'ensemble de nos professeurs

et maîtres qui ont contribué de près ou de loin

dans l'élaboration de ce travail.



ABBREVIATIONS



ADN	: Acide désoxyribonucléique
ADNr	: Acide désoxyribonucléique ribosomique
AMTD	: Amplified <i>Mycobacterium tuberculosis</i> direct
ARN	: Acide ribonucléique
ARNt	: Acide ribonucléique de transfert
ATB	: Antibiotique
BAAR	: Bacilles acido-alcool-résistants
BCG	: Bacille de Calmette et Guérin
BK	: Bacille de Kokh
CD	: Cellules dendritiques
CDTMR	: Centre Diagnostique de Tuberculose et des Maladies Respiratoire
CEMOVIS	: Cryo-electron microscopy of vitreous sections
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
CRP	: Protéine C-réactive
DOTS	: Directly observed treatment, short-course
DR	: Direct repeat
DST	: Drug susceptibility testing
ELISPOT	: Enzyme-linked immunospot
ETM	: Ethambutol
FQ	: Fluoroquinolone
H2O2	: Peroxyde d'hydrogène
<i>H.pylori</i>	: <u><i>Helicobacter pylori</i></u>
IDR	: Intradermoréaction.
IFN γ	: Interferon gamma
IGRA	: Interferon gamma release assay
IL-2	: Interleukine 2
INH	: Isonicotinyl hydrazine

IS : Insertion Sequences

ITL : Infection tuberculeuse latente

LAM : Lipoarabinomannane

LAMP : Loop media-mediated isothermal amplification test

LCR : Liquide céphalorachidien

LED : Light emitting diode

L-J : Lowenstein-Jensen

LPA : Line probe assay

LY B : Lymphocyte B

LY T : Lymphocyte T

MDR : Multi-Drug Resistance

MGIT : Mycobacterial growth indicator tube

M-LED : Microscopie light emitting diode

MNT : *Mycobacterium non tuberculosis*

MPTR : Major polymorphic tandem repeats

MTB : *Mycobacterium tuberculosis*

NFS : Numération formule sanguine

OMS : Organisation mondiale de la santé

PBS : Tempon phosphate salin

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

PE : Proline-glutamate - n

PGRS : Polymorphic GC-rich Repetitive Sequence

PIT : Primo-infection tuberculeuse

PPE : Proline-proline-glutamate - n

PZA : Pyrazinamide

RIF : Rifampicine

RTC : Réaction cutanée à la tuberculine

TAG : Techniques d'amplification génique
TB : Tuberculose
TNF α : Facteur de nécrose des tumeurs alpha
SM : Streptomycine
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine
VPP : Valeur prédictive positive
XDR-TB : Extensively Drug-Resistant Tuberculosis
Z A : Ziehl-Armand
Z N : Ziehl-Neelsen



PLAN



INTRODUCTION	1
MATERIELS & METHODES	3
I. TYPE DE L'ETUDE	5
II. OBJECTIFS DE L'ETUDE	5
I.1. Objectif principal	5
I.2. Objectifs secondaires	5
III. CADRE D'ETUDE	5
IV. CRITERES D'INCLUSION ET D'EXCLUSION	6
IV.1. Critères d'inclusion	6
IV.2. Critères d'exclusion	6
V. RECUEIL DES DONNEES	6
VI. CONSIDERATION ETHIQUE	7
VII. DEROULEMENT DE L'ETUDE	7
VII.1. Mode de collecte et acheminement des prélèvements	7
VII.2. Analyse des échantillons et description des procédures	7
VIII. ANALYSE STATISTIQUE	15
RESULTATS	16
I. CARACTERISTIQUES GENERALES DE LA POPULATION ETUDIEE :	17
I.1. Données démographiques	17
I.2. Données cliniques et paracliniques	18
II. ETUDE MOLECULAIRE	22
II.1. Identification des souches	22
II.2. Identification de la résistance à la rifampicine	23
III. CARACTERISTIQUES CLINIQUES ET SOCIODEMOGRAPHIQUES DES PATIENTS ATTEINTS DE TUBERCULOSE RESISTANTE A LA RIFAMPICINE	23
III.1. Données démographiques	23
III.2. Données cliniques et paracliniques	25
IV. L'ASSOCIATION ENTRE LES FACTEURS DE RISQUE ET LA RESISTANCE A LA RIFAMPICINE ...	27
DISCUSSION	29
I. RAPPEL	30
I.1. Histoire de la tuberculose	30
I.2. Taxonomie	32
I.3. Caractères bactériologiques	34
I.4. Caractères épidémiologiques	41
I.5. Aspect clinique	53
I.6. Diagnostic	62
I.7. Prévention	87

I.8.	Traitement.....	92
I.9.	Résistance aux antibacillaires	99
I.10.	Diagnostic de la résistance	107
II.	DISCUSSION DE NOS RESULTATS	112
II.1.	La prévalence de la résistance du <i>M.tuberculosis</i> à la rifampicine	112
II.2.	Sexe	115
II.3.	Age.....	115
II.4.	Lieu de résidence.....	116
II.5.	Antériorité de traitement anti-bacillaire	117
II.6.	Site d'infection	118
II.7.	VIH	119
II.8.	Tabac	120
II.9.	Sensibilité des techniques	120
	CONCLUSION	122
	RESUMEES	126
	Résumé	127
	Abstract	129
	ملخص	131
	BIBLIOGRAPHIE	135

LISTE DES FIGURES

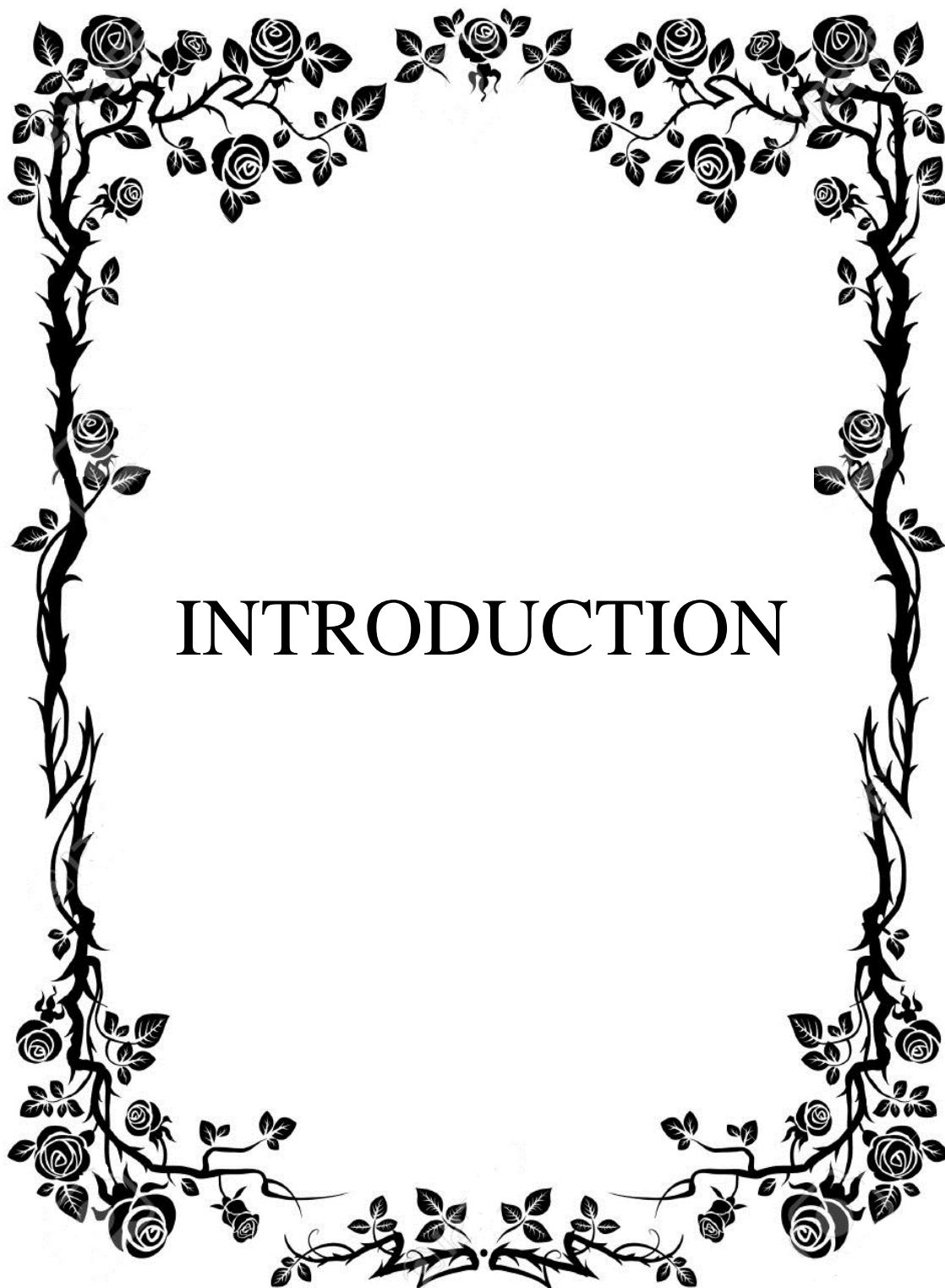
Figure 1: Microscope optique (matériels du laboratoire de bactériologie à l'hôpital militaire Avicenne).....	8
Figure 2: Technique de lecture des lames.....	9
Figure 3: Colonies de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> sur milieu de culture Lowenstein-Jensen.	10
Figure 4: Aspect microscopique de <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> après culture.....	11
Figure 5: Gène rpoB région déterminant la résistance à la rifampicine.....	12
Figure 6: Protocole de préparation du test.....	12
Figure 7: Instrument de GenXpert MTB/RIF.....	13
Figure 8: Amplificateur d'ADN.....	14
Figure 9: Carte d'interprétation.....	14
Figure 10: Répartition des patients selon le service de recrutement.....	17
Figure 11: Répartition des patients selon le sexe.....	17
Figure 12: Répartition des participants selon l'âge.....	18
Figure 13: Répartition des participants selon le lieu de résidence (n=152).....	18
Figure 14: Répartitions des patients selon l'antécédent de traitement antérieur (n=106).....	19
Figure 15: Répartition des patients selon les antécédents (n=152).....	20
Figure 16: Répartition des patients selon le diagnostic (n=152).....	20
Figure 17: Répartition des échantillons selon les résultats des frottis initiaux (n=152).....	21
Figure 18: Évolution des patients pendant la durée d'étude (n=152).....	22
Figure 19: Identification des souches isolés (n=152).....	22
Figure 20: Proportion de la résistance à la rifampicine (n=143).....	23
Figure 21: Répartition des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine selon le service.....	24
Figure 22: Répartition des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine selon le sexe (n=15).....	24
Figure 23: Répartition des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine selon l'âge (n=15).....	25
Figure 24: Relation entre la résistance du complexe <i>M. tuberculosis</i> à la rifampicine et l'antécédent de traitement antérieur de la tuberculose (n=143).....	26
Figure 25: Répartition des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine selon la localisation de la tuberculose.....	27
Figure 26: Evolution des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine pendant la durée d'étude.....	27

Figure 27: Cartes postales anciennes de l'Hôpital de Ben Smim situé à la ville d'Azrou	31
Figure 28: Timbre illustrant le sanatorium antituberculeux de Ben-Smim	31
Figure 29: Représentation schématique des mycobactéries	33
Figure 30: Aspect microscopique de <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> après coloration de Ziehl-Nielsen	35
Figure 31: Image de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> par microscope électronique.....	35
Figure 32: Modèle d'organisation de l'enveloppe des mycobactéries.....	36
Figure 33: Représentation schématique du génome de <i>M. tuberculosis</i> H37Rv.....	40
Figure 34: Cycle infectieux du <i>M.tuberculosis</i>	43
Figure 35: Incidence de la tuberculose par pays, 2015	45
Figure 36: Cas notifiés de la TB-MDR chez les nouveaux cas, 2015	46
Figure 37: Cas notifiés de la TB-MDR chez les cas antérieurement.....	47
Figure 38: Pourcentage de cas de tuberculose confirmés bactériologiquement testés pour la tuberculose résistante à la rifampicine, 2015	47
Figure 39: Patients avec TB-XDR confirmé, ayant commencé le traitement en 2015.....	48
Figure 40: Distribution proportionnelle, par région, des cas de TB rapporté en 2016.....	49
Figure 41: Evolution du nombre de cas et de l'incidence de la TB au Maroc, 1991-2016.....	50
Figure 42: Structure et constituants cellulaires du granulome tuberculeux	51
Figure 43: Tuberculose verruqueuse du dos de la main.....	58
Figure 44: Lupus tuberculeux étendu	58
Figure 45: Radiographie du thorax de face : opacité alvéolaire systématisée du lobe moyen : forme pneumonique d'une tuberculose primaire	63
Figure 46: Radiographie du thorax de face : élargissement du médiastin supérieur antérieur et moyen avec compression de la face latérale droite de la trachée : tuberculose ganglionnaire	64
Figure 47: a : Radiographie du thorax de face : syndrome interstitiel micronodulaire bilatéral diffus aux deux champs pulmonaires ; b : Coupe TDM axiale: micronodules bilatéraux diffus de distribution hématogène : miliaire tuberculeuse.....	64
Figure 48: Radiographie du thorax de face : nodules et nodules excavés multiples diffus au champ pulmonaire gauche.....	65
Figure 49: Radiographie du thorax de face : cavité aérique apicale gauche avec visualisation de la bronche de drainage (flèche) entourée de micronodules et nodules	66
Figure 50: Epanchement pleural sans lésion parenchymateuse (a) et infiltration pulmonaire du lobe supérieur (b)	67
Figure 51: Image par résonance magnétique (IRM) d'une femme de 35 ans souffrant de tuberculose spinale, montrant la destruction des corps vertébraux thoraciques (T8 et T9) et la compression de la moelle épinière	68

Figure 52: IRM montrant un tuberculome (grande flèche blanche), rehaussement méningée basale (petites flèches rouges) et hydrocéphalie (flèche bleue) chez un enfant de 2 ans atteint de méningite tuberculeuse	69
Figure 53: Méthode de coloration Ziehl–Nielsen	74
Figure 54: <i>M. tuberculosis</i> coloré à l'auramine	75
Figure 55: Coloration de Ziehl–Neelsen sur examen direct. Microscopie optique à fond clair, grossissement $\times 1\ 000$	75
Figure 56: Le tube MGIT 960 à droite contient des mycobactéries en croissance et est fluorescent lorsqu'il est exposé à la lumière UV. En revanche, le tube de gauche ne contient pas de mycobactéries	78
Figure 57: Les colonies de deux espèces différentes de <i>Mycobacterium</i> sont mises en évidence sur des arêtes de gélose Lowenstein–Jensen	79
Figure 58: Niacin test	80
Figure 59: Test tuberculinique.....	85
Figure 60: Antibiotiques de première ligne utilisés pour le traitement de la tuberculose sensible et leur mode d'action	101
Figure 61: Schéma des mécanismes d'action et de résistance de l'isoniazide.....	105
Figure 62: Principe de la recherche de mutation dans le gène <i>rpoB</i> par hybridation sur bandelette : l'exemple du test INNO–LiPA Rif.TB	110
Figure 63: Exemples de résultats de la recherche de mutation dans les gènes <i>rpoB</i> et <i>katG</i> par hybridation sur bandelette GenoType MTBDRplus	111

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Quantification des bacilles acido-alcolo-résistants	Erreur ! Signet non défini.
Tableau II: Conditions prédisposantes des participants à l'étude.....	19
Tableau III: Nature des prélèvements étudié.....	21
Tableau IV: Lieu de résidence des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine	25
Tableau V: Conditions prédisposantes des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine	26
Tableau VI: Analyse multivariée des facteurs de risque	28
Tableau VII: Facteurs de risque pour la tuberculose maladie [72]	44
Tableau IX: Classifications existantes des médicaments antituberculeux (1 et 2) et éventuels changements futurs basés sur des preuves récentes (3).....	95
Tableau X: Schéma thérapeutique	96
Tableau XI: RRDR dans le gène rpoB de 47 souches de <i>M. tuberculosis</i> résistantes au RIF au Maroc [211].....	104
Tableau XII: Comparaison de nos résultats avec des études internationales	114
Tableau XIII: Répartition selon le sexe d'après des études internationales	115
Tableau XIV: Tranche d'âge la plus fréquente selon des études internationales	116
Tableau XV: Lieu de résidence des patients atteint de tuberculose résistante à la rifampicine selon les auteurs	117
Tableau XVI: Comparaison de nos résultats avec des études internationales.....	118
Tableau XVII: localisation de tuberculose résistante à la RIF selon les auteurs	119
Tableau XVIII: proportion de la co-infection de la tuberculose résistante à la RIF et le VIH	119
Tableau XIX: Proportion des tabagiques atteints de tuberculose résistante à la RIF.....	120
Tableau XX: Sensibilité de l'identification du <i>Mycobacterium tuberculosis</i> par l'étude moléculaire	121
Tableau XXI: Sensibilité de l'examen direct dans la détection de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	121



INTRODUCTION

La tuberculose (TB) constitue encore de nos jours, un problème majeur de santé publique. Dans son dernier rapport, l'OMS déclare 10,4 millions de nouveaux cas avec 1,4 millions de décès en 2015 [1].

Au Maroc, la situation épidémiologique de la tuberculose est très inquiétante, selon le ministère de la santé, 31542 nouveaux cas déclarés en 2016, correspondant à une incidence de 91/100000 habitant [2].

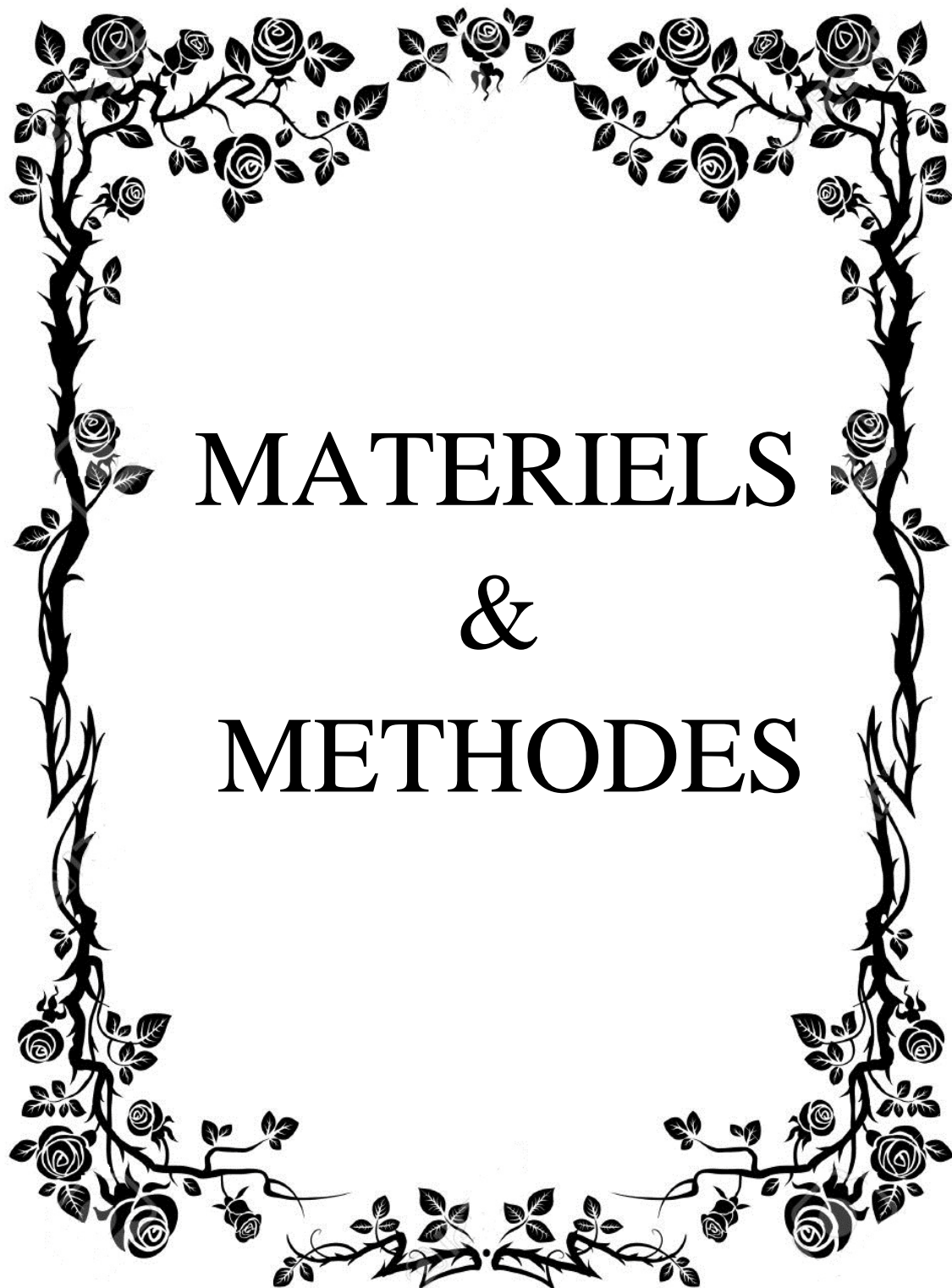
Le contrôle de la TB est devenu de plus en plus compliqué suite à la co-infection par le virus d'immunodéficience humaine (VIH) et à l'émergence de souches résistantes à la rifampicine, voire des souches multi-résistantes (résistante à au moins l'isoniazide et la rifampicine.) et ultra-résistantes (résistante à une fluorquinolone et à au moins un des trois médicaments injectables de deuxième intention, en plus de la multi-résistance.). Cette résistance menace le succès des différents programmes de contrôle de la TB et entraîne souvent une augmentation du taux de la mortalité. En 2015, l'OMS estime que 580 000 personnes ont développé une tuberculose résistante à la rifampicine. Alors qu'au Maroc 160 patients ont développé une TB-multirésistante [1].

Le diagnostic bactériologique est essentiel pour la prise en charge de la maladie puisqu'il permet d'identifier le bacille, de tester sa sensibilité aux antibacillaires et d'adapter ensuite le traitement en fonction des résultats de l'antibacillogramme. Cependant, en raison de la lenteur de la croissance des mycobactéries, le délai d'obtention des résultats est assez long, une antibiothérapie systématique est administrée au patient ce qui favoriserait l'émergence de souches résistantes aux ATB et leur propagation dans la population, d'où l'intérêt d'une méthode de diagnostic efficace et rapide. En 2011, l'OMS a introduit l'utilisation large du test Xpert MTB / RIF. Il s'agit d'un test moléculaire de diagnostic entièrement automatisé utilisant la technologie de PCR en temps réel pour détecter simultanément les mutations de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine dans le gène *rpoB* [3].

L'objectif de ce travail est d'identifier par étude moléculaire les cas de résistance des souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis* à la rifampicine isolées dans la région de

Marrakech, l'identification des principaux facteurs de risques associés à cette résistance, ainsi que d'évaluer la sensibilité de l'étude moléculaire et de l'examen direct par rapport à la culture.

Cette étude prospective est menée auprès de 152 patients ayant une tuberculose confirmée par culture, au sein des laboratoires de mycobactériologie de Marrakech, sur une durée de 26 mois.



MATERIELS
&
METHODES

I. TYPE DE L'ETUDE

Notre travail est une étude prospective transversale de type descriptive et analytique qui s'est déroulée sur une période de 26 mois (du 1^{er} janvier 2015 au 28 février 2017).

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

I.1. Objectif principal

L'objectif de ce travail est d'identifier par étude moléculaire tous les cas de résistance du complexe *Mycobacterium tuberculosis* à la rifampicine dans les laboratoires de mycobactériologie de Marrakech, sur une durée de 26 mois.

I.2. Objectifs secondaires

–Évaluer la sensibilité de l'étude moléculaire et de l'examen direct par rapport à la culture.

–Etudier la relation entre les facteurs de risque et la résistance du *Mycobacterium tuberculosis* à la rifampicine.

III. CADRE D'ETUDE

Nos patients ont été colligés des laboratoires de mycobactériologie de Marrakech

- Laboratoire de mycobactériologie de l'hôpital militaire Avicenne.
- Laboratoire de mycobactériologie de l'hôpital Arrazi.
- Laboratoire de mycobactériologie du centre diagnostique de tuberculose et des maladies respiratoires (CDTMR).

IV. CRITERES D'INCLUSION ET D'EXCLUSION

IV.1. Critères d'inclusion

Les patients inclus dans notre étude sont des nouveaux cas ou précédemment traités atteints de tuberculose toutes formes confondues, de n'importe quel groupe d'âge et chez qui la tuberculose a été confirmée par culture, avec ou sans examen direct initial positif, sur la période du 1^{er} janvier 2015 au 28 février 2017.

IV.2. Critères d'exclusion

Les patients exclus de notre étude sont les cas de *tuberculose* suspectés cliniquement ou les cas confirmés bactériologiquement par examen microscopique de frottis positif mais avec culture négative.

V. RECUEIL DES DONNEES

Le recueil des données de chaque patient s'est fait par l'exploration minutieuse des dossiers médicaux, et des registres.

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

- ✓ Nom et prénom,
- ✓ Sexe,
- ✓ Age,
- ✓ Lieu de résidence,
- ✓ Antécédents de tuberculose,
- ✓ Conditions prédisposant à la tuberculose,
- ✓ Diagnostic clinique,
- ✓ Diagnostic bactériologique,

- ✓ Traitement,
- ✓ Evolution de la maladie.

VI. CONSIDERATION ETHIQUE

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

VII. DEROULEMENT DE L'ETUDE

VII.1. Mode de collecte et acheminement des prélèvements

De chaque patient suspect de tuberculose pulmonaire, 3 échantillons d'expectoration ont été recueillis (1 par jour, 3 jours successifs). Dans le cas de suspicion de tuberculose extrapulmonaire, 1 échantillon de pus, de LCR, d'aspiration ganglionnaire, d'échantillons de fluide péritonéal et pleural ou d'un fragment de biopsie a été recueilli.

Les échantillons ont été acheminés rapidement au laboratoire de bactériologie de référence, dans les 24 h de la collecte.

VII.2. Analyse des échantillons et description des procédures

VII.2.1. Examen direct

Le N° du prélèvement est gravé au diamant sur la lame correspondant. A partir du prélèvement, sous hotte, un frottis fin est réalisé sur les 2/3 de la lame, trop épais le frottis se décolle. Le frottis est séché à l'air ou sur une plaque chauffante à température moyenne.

➤ Coloration Ziehl–Armand

La coloration de Ziehl–Armand, variante de technique de Ziehl–Neelsen , qui permet une détection des mycobactéries ou Bacilles Acido–Alcool–Résistants (B.A.A.R) dont la structure très particulière de la paroi rend difficile la pénétration d'agents décolorants. Cette propriété permet au B.A.A.R de conserver la coloration par la fuchsine phéniquée. L'utilisation du colorant d'Armand permet de réaliser simultanément la décoloration et contre-coloration

de toutes les bactéries non acido-alcolo-résistantes, des éléments cellulaires et du fond de la préparation. Dans cette technique de coloration rapide à froid, le temps de contact avec la fuchsine phéniquée est réduit.

✓ **Mode opératoire**

Le frottis fixé est placé sur le support de coloration, on recouvre la lame avec la fuchsine phéniquée pendant 5 min, on rince à l'eau courante, ensuite on recouvre la lame avec le colorant d'Armand pendant 1 min, on rince brièvement à l'eau courante et on sèche le frottis.

Nous avons utilisé le kit Quick-BK (annexe). Kit de coloration à froid pour la détection des mycobactéries.

➤ **Résultats des frottis**

La lecture des lames colorées se fait par microscope optique avec objectif 100 x et des oculaires de 10 (figure 1). C'est-à-dire grossissement final de 1000.



Figure 1: Microscope optique (matériels du laboratoire de bactériologie à l'hôpital militaire Avicenne)

Il faut examiner au moins 100 champs, ce qui requiert environ 15 minutes avant de déclarer une lame négative. Trois balayages du frottis doivent être réalisés (figure 2).

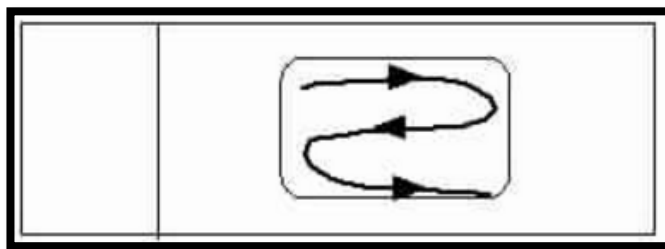


Figure 2: Technique de lecture des lames

Les Bacilles Acido-Alcool Résistants (B.A.A.R.) apparaissent roses sur fond bleu.

Les résultats sont quantifiés de la façon suivante : (Codification OMS/UICTMR) (tableau1).

Tableau I: Quantification des bacilles acido-alcolo-résistants

Douteux	1-2 bacilles pour > 200 champs (x 1000) (répéter l'examen)
< 10	1 - 9 bacilles pour 100 champs
+	10 - 99 bacilles pour 100 champs
++	1 - 9 bacilles par champ
+++	> 10 bacilles pour 1 champ

VII.2.2. Traitement et mise en culture

Tous les échantillons pulmonaires nécessitent une étape de traitement pré-analytique spéciale, avant de les cultiver, appelée décontamination et homogénéisation pour laisser les bacilles tuberculeux exempts de mucus, de cellules ou de tissus, ainsi que pour éviter le surcroît de l'organisme commensal qui peut être présent dans l'échantillon. Cette étape a été réalisée par la méthode NALC-NaOH pour la culture liquide dans Bact / Alert, qui n'est disponible qu'au laboratoire de bactériologie de CHU Mohamed IV, et la méthode Kubica, modifiée par Krasnow, pour la culture sur milieu LJ, qui est basée sur l'emploi simultané de L-cystéine et du chlorure de benzalkonium. La L-cystéine est un agent mucolytique à action rapide, le chlorure de benzalkonium détruit la plupart des germes à l'exception des mycobactéries. Le tampon phosphate garantit que l'échantillon est au pH optimal pour la culture. L'albumine bovine agit comme agent protecteur. Le prétraitement et la décontamination des échantillons augmente la concentration des bacilles relativement acides et assure une détection plus sensible pendant la culture.



Figure 3: Colonies de *Mycobacterium tuberculosis* sur milieu de culture Lowenstein-Jensen.



On commence par laisser les réactifs revenir à température ambiante, puis dissoudre 50 mg de réactif R1 dans 10 ml de réactif R2, ce mélange (réactif décontaminant) doit être préparé extemporanément. Dans un tube à centrifuger stérile de 50 ml fermé par un bouchon vissé, on introduit à volume égal 5 à 10 ml de crachat et de réactif décontaminant. On homogénéise sur un agitateur pendant 30 secondes à 1 min, on laisse agir 15 à 45 min à température de laboratoire pour décontaminer. On ajoute à ce mélange un volume équivalent de réactif R3, puis on centrifuge à 3000 tr/min, pendant 20 minutes et éliminer le liquide surnageant. On remet en suspension le culot dans 1 à 2 ml de réactif R4 pour la mise en culture. Ce mélange a étéensemencé dans un tube de LJ. Les milieux ont été incubés à 37°C, et placés verticalement pendant 1 semaine et horizontalement pour les 5 prochaines semaines. La coloration ZN se fait à partir de colonies suspectes, cultivées sur les milieux LJ sur une base hebdomadaire jusqu'à la fin de la durée de routine de l'incubation de 6 semaines (figure 3).

Chaque flacon de culture liquide a été inoculé avec 0,5 ml de l'échantillon après un traitement initial avec du NALC-NaOH. Toute bactérie si présente dans le flacon, produira du CO₂ comme métabolite respiratoire. Lorsque la croissance du microorganisme produit du CO₂, la couleur du capteur perméable aux gaz installé au bas du flacon se transforme en vert ou en jaune qui, à son tour, sera détectée par le capteur optique de la machine. Tous les flacons signalés positifs ont ensuite été confirmés par coloration au ZN.

VII.2.3. Ex direct sur culture

Les cultures positives sont confirmées par un examen direct après coloration de ZA (figure 4).

Technique

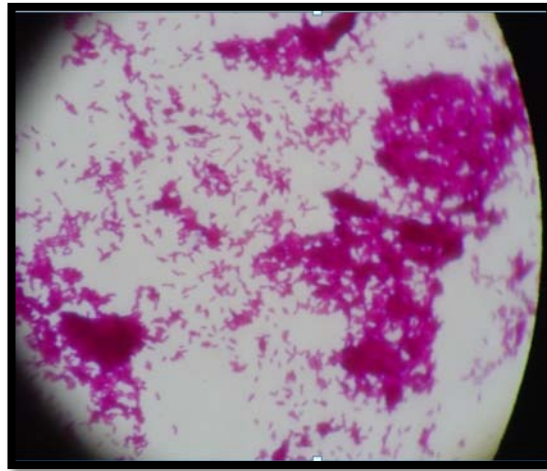


Figure 4: Aspect microscopique de *Mycobacterium Tuberculosis* après culture

VII.2.4. Identification et test de sensibilité

Nous avons confirmé 190 cultures positives sur des prélèvements de 152 patients (ayant chacun de 1 à 3 cultures positives). Nous avons, pour ceci, prélevé une colonie de chacune pour les mélanger dans un seul tube contenant 2 ml de PBS pour préparer l'échantillon à tester.

Les cultures positives de l'année 2015 confirmées au laboratoire de CDTMR ont été renvoyées à l'institut national d'hygiène à Rabat (INH) pour identification et étude moléculaire de la sensibilité aux antibacillaires, le reste des cultures positives incluses dans notre étude ont été identifiées et testées, soit au laboratoire de CDTMR par technique d'hybridation inverse GenoType® MTBDRplus, soit au laboratoire de bactériologie de l'hôpital militaire d'Avicenne par GeneXpert® MTB/RIF.

➤ Xpert MTB/RIF

L'identification du *Mycobacterium tuberculosis* et la détection de la résistance à la rifampicine à été réalisée par la version G4 Xpert, qui comprend des modifications à l'une des cinq sondes de test spécifiques de rpoB (sonde B) et aux paramètres du logiciel analytique

dans le but de diminuer à la fois les résultats de résistance à la RIF faussement positifs et le taux de résultat de 5% non déterminé dans certains paramètres (figure 5) [4].

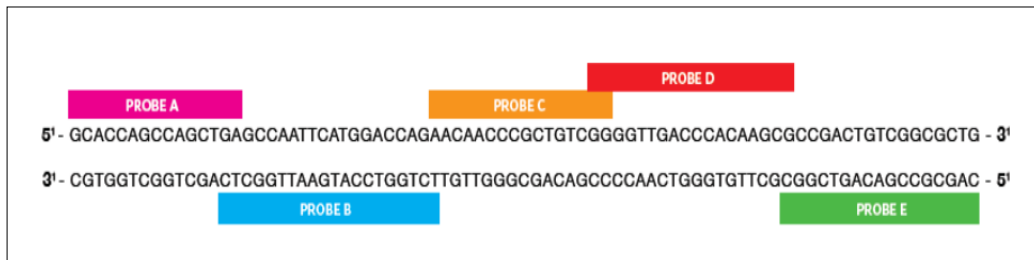


Figure 5: Gène rpoB région déterminant la résistance à la rifampicine

5 sondes : séquence sauvage
1 sonde témoin de la réaction

✓ **Protocole**

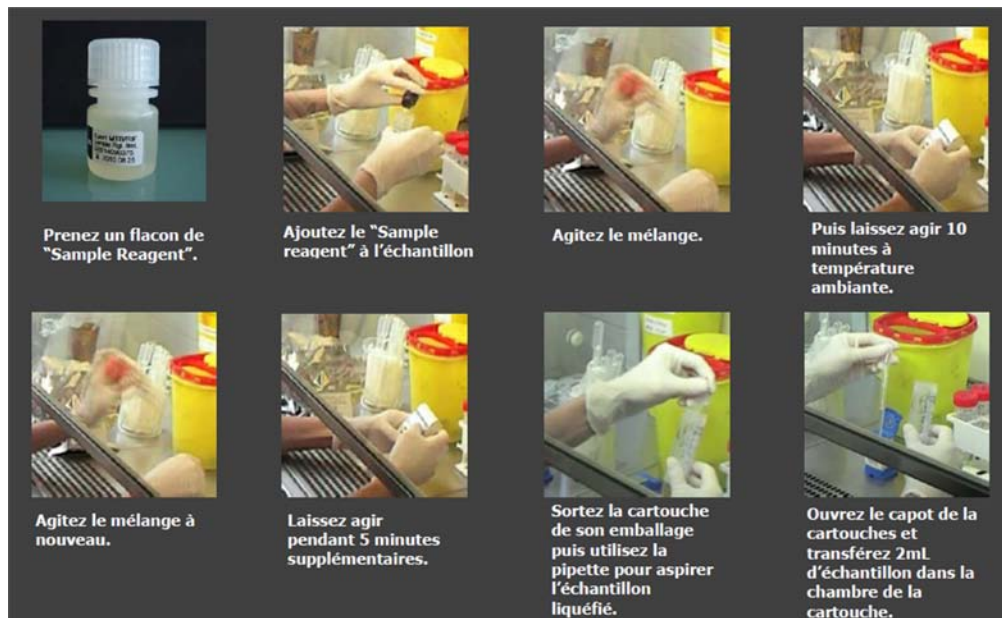


Figure 6: Protocole de préparation du test

La cartouche est chargée dans un module disponible de l'instrument (figure 7), puis le test est lancé.

Au cours du test, le système réalise les étapes suivantes :

1. Il déplace les échantillons et les réactifs dans différentes chambres de la cartouche pour la préparation d'échantillons,
2. Il hydrate les billes de réactifs,

3. Il effectue des vérifications de la sonde pour assurer que la préparation de l'échantillon est réussie,
4. Il déplace le mélange de l'échantillon et du réactif dans le tube réactionnel,
5. Il initie les cycles PCR et la détection en temps réel (annexe).



Figure 7: Instrument de GenXpert MTB/RIF

➤ **MTBDRplus**

La méthode de dosage moléculaire utilisée pour l'identification et la détection des mutations responsable de la résistance à la RIF et INH a été effectuée à l'aide du test GenoType MTBDRplus version 2.0 (Hain Lifescience GmbH). Le test est rapide et précis pour identifier les cas de TB-MR. En utilisant la PCR multiplex (annexe), les gènes responsables de la résistance aux médicaments, tels que *katG*, *inhA* et *rpoB*, ont été amplifiés (figure 8) et les amplicons marqués par la biotine résultants ont été hybridés avec des sondes ADN liées à la membrane sur la bande. Ceci est suivi par l'addition d'un conjugué et d'un substrat pour détecter des motifs de bande visibles sur la bande, qui est effectué manuellement à l'aide d'un bain-marie agitateur à 45 ° C. Ensuite, les bandes sont prêtes à être séchées et interprétées (figure 9) [5,6].



Figure 8: Amplificateur d'ADN



Figure 9: Carte d'interprétation

Pour chaque gène, le test a été effectué pour tester la présence de sondes de type sauvage (WT) et mutant (MUT). Chaque bande de l'essai comporte 27 zones de réaction, y compris six témoins (conjugué, amplification, MTBC, rpoB, katG et inhA), huit rpoB WT (WT-1 à WT-8) et quatre MUT (rpoB MUT Asp516Val, rpoB MUT His526Tyr, rpoB MUT His526Asp et rpoB MUT Ser531Leu), un katG WT (WT-315) et deux sondes MUT (katG MUT Ser315Thr1 et katG MUT Ser315Thr2) et deux inhA WT (WT-15 / -16 et WT- 8) et quatre sondes MUT (inhA MUT1 Cys15Thr, inhA MUT2 Ala16Gly, inhA MUT3A Thr8Cys et inhA MUT3B Thr8Ala). Ce dosage comprenait trois étapes: l'extraction de l'ADN, l'amplification multiplex par PCR et

l'hybridation inverse. Ces étapes ont été réalisées dans deux salles séparées de l'installation avec un accès restreint et un flux de travail unidirectionnel [5].

VIII. ANALYSE STATISTIQUE

Les données recueillies ont été saisies et codées sur le logiciel Microsoft Office Excel 2007, 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 groupes, pour l'étude des facteurs de risque : groupe sensible à la RIF et groupe résistant à la RIF. 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 $p < 0,05$.



I. CARACTERISTIQUES GENERALES DE LA POPULATION ETUDIEE :

I.1. Données démographiques

I.1.1. Service

Dans notre étude, 152 patients étaient atteints de tuberculose à culture positive, confirmé par examen direct. La plupart des participants ont été recrutés du CDTMR. (Figure 10)

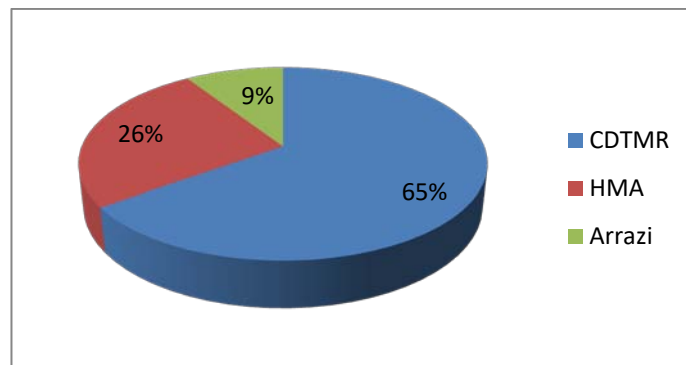


Figure 10: Répartition des patients selon le service de recrutement

I.1.2. Le sexe

Dans notre étude, la majorité des participants étaient des hommes, avec un sexe ratio de 3.47 (Figure 11).

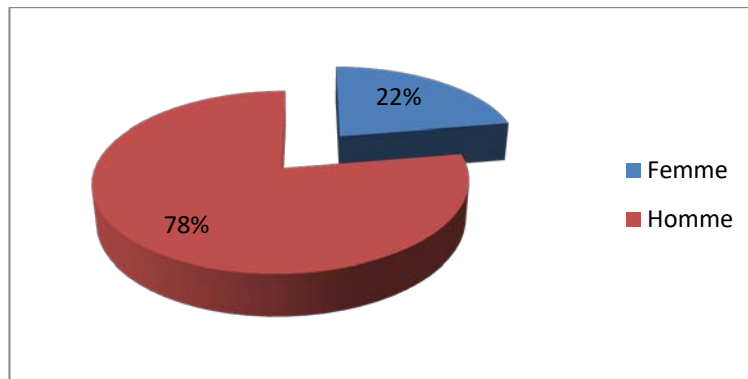


Figure 11: Répartition des patients selon le sexe

I.1.3. L'âge

Dans notre étude, l'âge des participants varie de 4 à 82 ans, dont la tranche d'âge la plus fréquente était de 35 à 45 ans, avec une moyenne de 39,7 ans. (Figure 12)

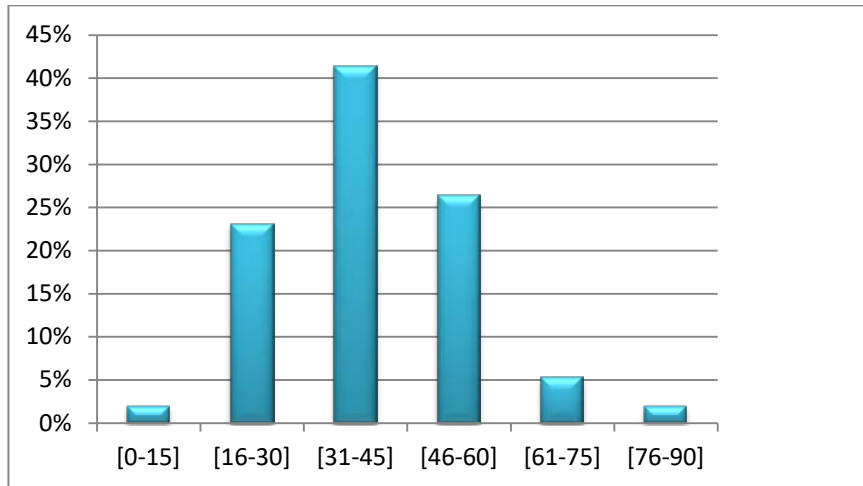


Figure 12: Répartition des participants selon l'âge

I.1.4. Lieu de résidence

Sur les 152 sujets étudiés, 125 étaient des habitants de Marrakech. (Figure 13)

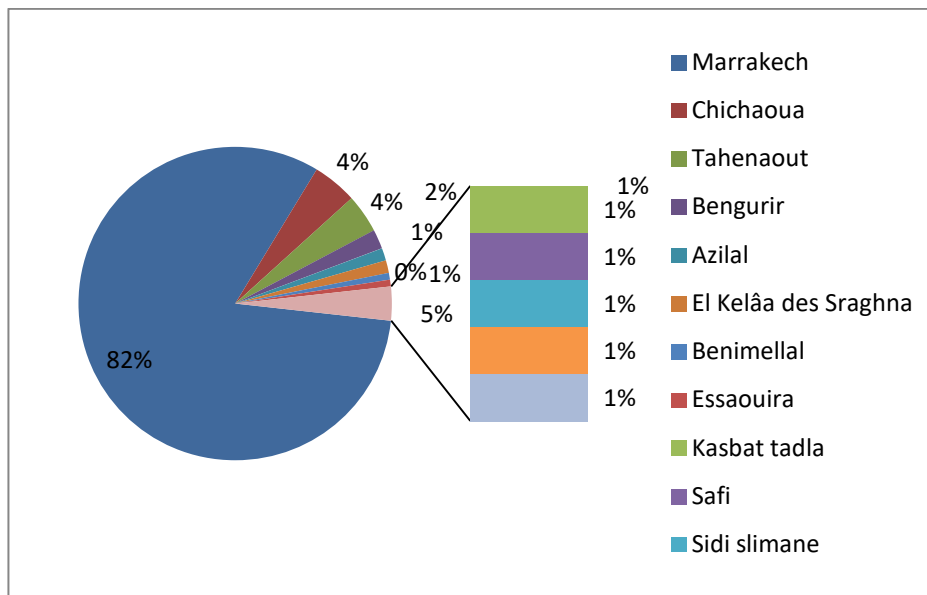


Figure 13: Répartition des participants selon le lieu de résidence (n=152)

I.2. Données cliniques et paracliniques

I.2.1. Conditions prédisposantes

Dans notre étude, 3 patients présentaient une co-infection tuberculose-VIH et 35 patients étaient tabagiques. (Tableau 2)

Tableau II: Conditions prédisposantes des participants à l'étude

conditions prédisposantes	Nombre (%)
Infection VIH positive	3 (2%)
Tabagisme	35 (23%)
Bas niveau socioéconomique	23 (15,1%)
Diabétique	7 (4,6%)
Sous traitement immunosuppresseur	2 (1,3%)
Sujet âgé	11 (7,2%)
Cachexie	1 (0,7%)
pas de conditions prédisposantes évidentes	96 (64,4%)
Ethylisme	2 (1,3%)

I.2.2. Antécédent de traitement antérieur

Sur les 152 cas, 46 patients avaient un profil de traitement anti-bacillaire antérieur inconnu.

(Figure 14)

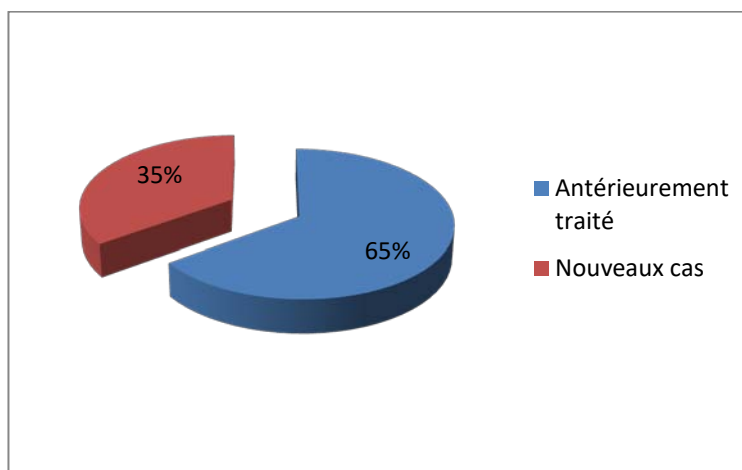


Figure 14: Répartitions des patients selon l' antécédent de traitement antérieur (n=106)

I.2.3. Antécédents tuberculeux

Dans notre étude, plus que la moitié des participants n'avait pas d'antécédent tuberculeux.

(Figure 15)

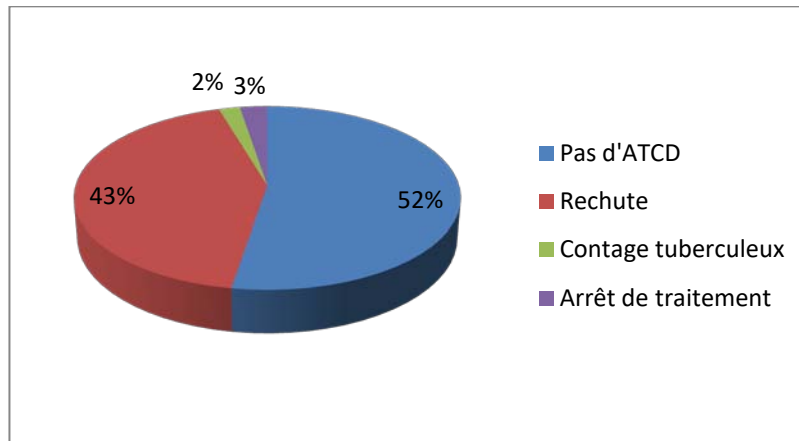


Figure 15: Répartition des patients selon les antécédents (n=152)

I.2.4. Localisation de la tuberculose

Dans notre étude, la majorité des patients avaient une tuberculose pulmonaire. (Figure 16)

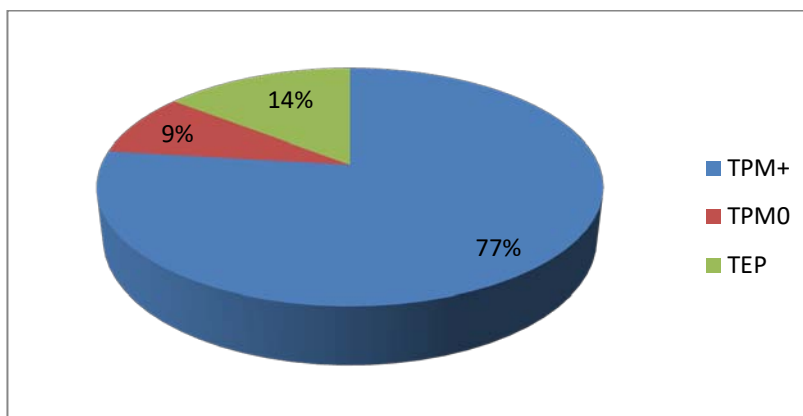


Figure 16: Répartition des patients selon le diagnostic (n=152)

I.2.5. Nature des prélèvements

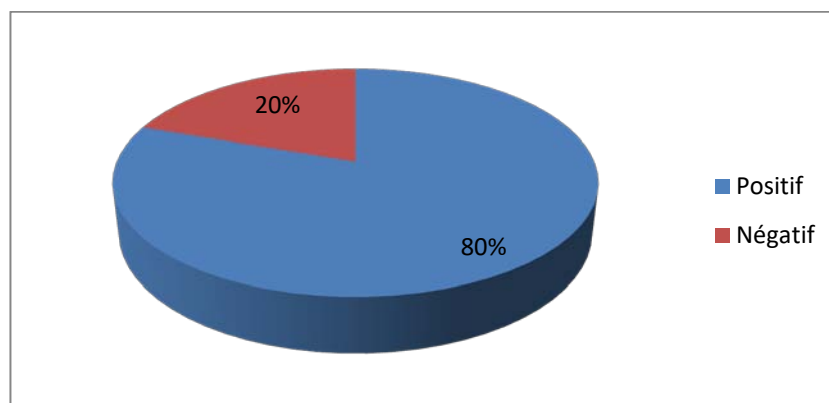
Dans notre étude, plus que 80% des prélèvements étaient des expectorations. (Tableau 3)

Tableau III: Nature des prélèvements étudié

Nature des prélèvements	Nombre (%)
Expectoration	128 (84,2%)
Aspiration bronchique	3 (2%)
Tubage gastrique	1 (0,7%)
Liquide pleural	5 (3,3%)
Biopsie pleurale	5 (3,3%)
pus ganglionnaire	8 (7,7%)
LCR	1 (0,7%)
Urine	1 (0,7%)
Totale	152 (100%)

I.2.6. Examen direct initial

Dans notre étude, l'examen direct des échantillons est positif dans la majorité des cas. (Figure 17)



I.2.7. Évolution des patients sous traitement

L'évolution de nos patients est marquée par la guérison. (Figure 18)

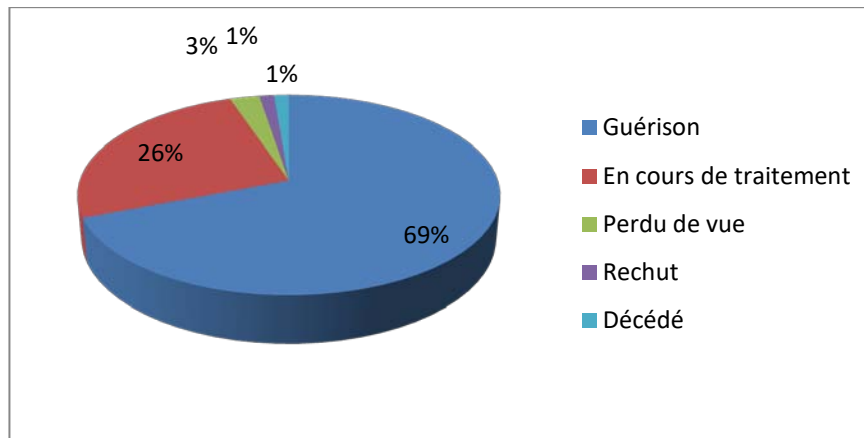


Figure 18: Évolution des patients pendant la durée d'étude (n=152)

II. ETUDE MOLECULAIRE

II.1. Identification des souches

Parmi les 152 échantillons, 9 souches n'ont pas été détectées par l'étude moléculaire. Ces souches, ont été considérées comme *Mycobacterium non tuberculosis* (MNT). Cependant, les patients infectés par ses souches ont été déclarés tuberculeux et ont pris un traitement anti-bacillaire. (Figure 19)

Figure 17: R... (n=152)

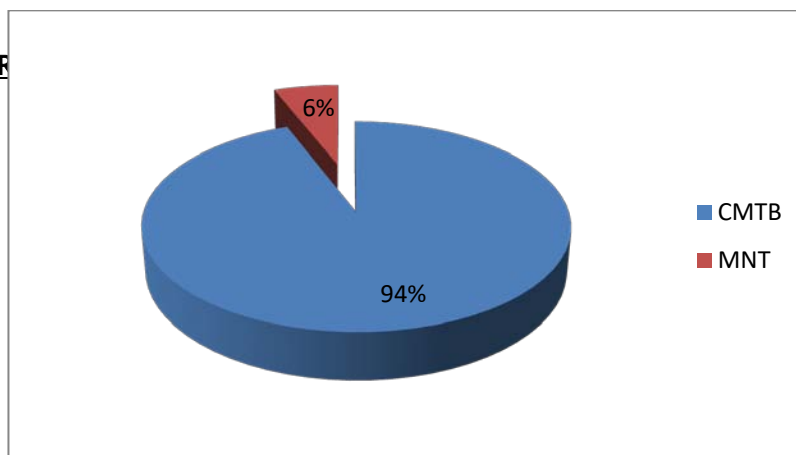


Figure 19: Identification des souches isolés (n=152)

II.2. Identification de la résistance à la rifampicine

Le test de sensibilité génotypique des 143 souches du CMTB a objectivé 15 cas de résistance à la rifampicine dont 3 souches non MDR. (Figure 20)

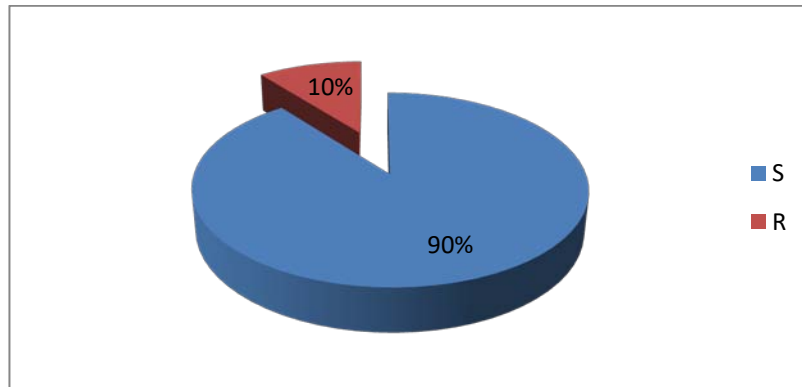


Figure 20: Proportion de la résistance à la rifampicine (n=143)

III. CARACTERISTIQUES CLINIQUES ET SOCIODEMOGRAPHIQUES DES PATIENTS ATTEINTS DE TUBERCULOSE RESISTANTE A LA RIFAMPICINE

III.1. Données démographiques

III.1.1.

La majorité de nos patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine ont été recrutés du CDTMR (figure 21).

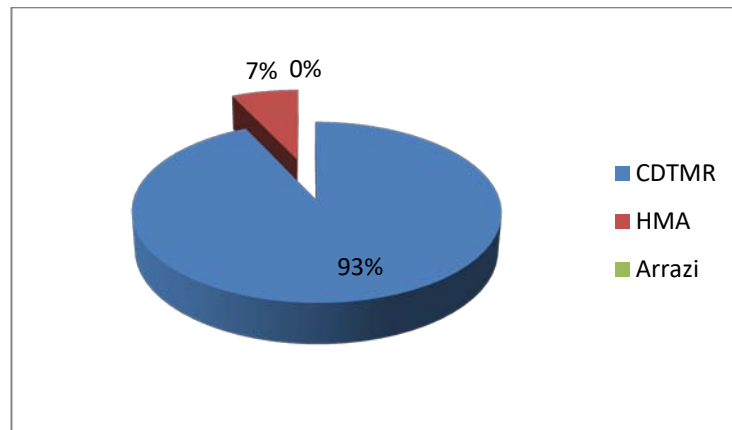


Figure 21: Répartition des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine selon le service

III.1.2. Sexe

Dans notre étude, on constate que les hommes sont plus touchés par la tuberculose résistante à la rifampicine. (Figure 22)

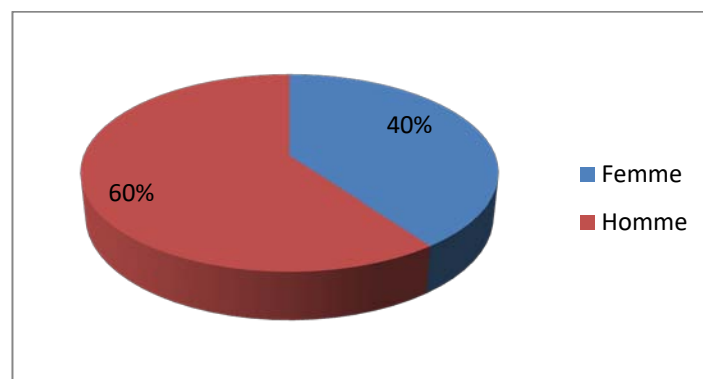


Figure 22: Répartition des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine selon le sexe (n=15)

III.1.3. L'âge

Dans notre étude, la tranche d'âge la plus touchée par la tuberculose résistante à la rifampicine était de 46 à 60 ans, avec une moyenne de 46.2 ans et une médiane de 48 ans. (Figure 23)

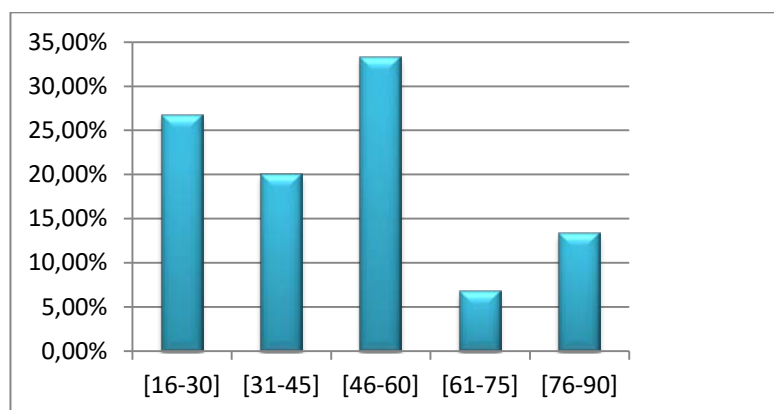


Figure 23: Répartition des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine selon l'âge (n=15)

III.1.4. Lieu de résidence

Dans notre étude, le *M.tuberculosis* résistant à la rifampicine touche essentiellement les habitants de Marrakech. (Tableau 4)

Tableau IV: Lieu de résidence des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine

Lieu de résidence		Nombre (%)
Milieu urbain	Marrakech	11 (73,3%)
	Essaouira	1 (6,7%)
Milieu rural	Tahennaout	2 (13,3%)
	Chichaoua	1 (6,7%)
Total		15 (100%)

III.2. Données cliniques et paracliniques

III.2.1. Conditions prédisposantes

Dans notre étude, la majorité de nos patients n'avaient pas de conditions prédisposantes à la résistance du *M.tuberculosis* à la rifampicine. (Tableau 5)

Tableau V: Conditions prédisposantes des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine

conditions prédisposantes	Nombre (%)
Infection VIH positive	1 (6,7%)
Tabagisme	3 (20%)
Bas niveau socioéconomique	4 (26,6%)
Sujet âgé	3 (20%)
RAS	7 (46,7%)

III.2.2. Antécédent de traitement antérieur

Dans notre étude, la tuberculose résistante à la rifampicine a été principalement acquise. (Figure 24)

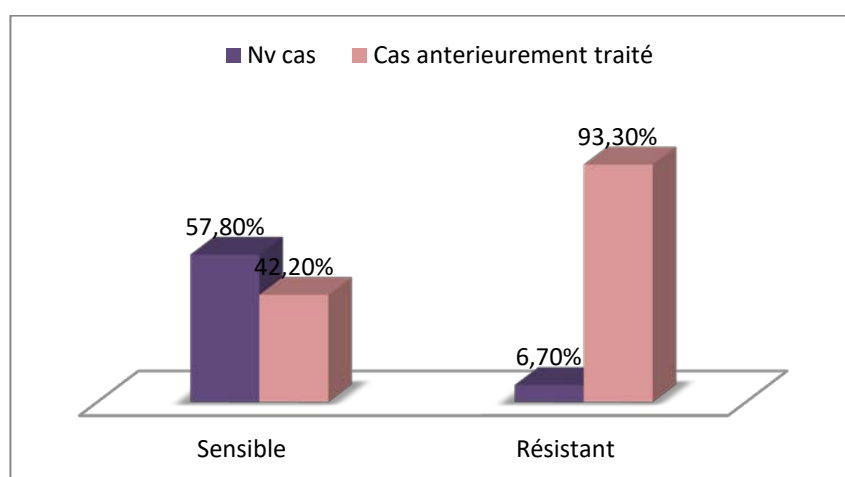


Figure 24: La relation entre la résistance du complexe *M. tuberculosis* à la rifampicine et l'antécédent de traitement antérieur de la tuberculose (n=143)

III.2.3. Localisation de la tuberculose

Sur les 15 cas de tuberculose résistante à la rifampicine, on a trouvé un seul cas de localisation extrapulmonaire. (Figure 25)

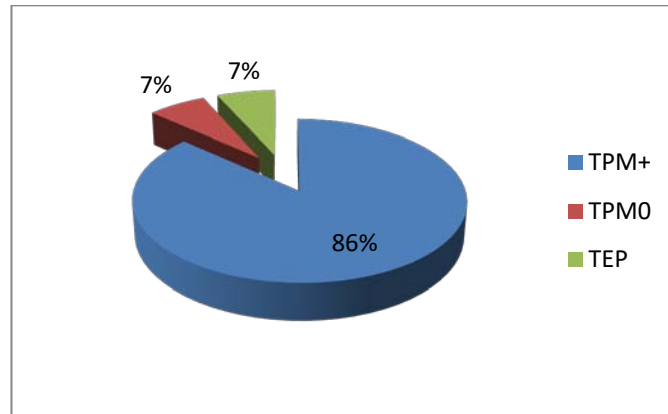


Figure 25: Répartition des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine selon la localisation de la tuberculose

III.2.4. Évolution des patients sous traitement

L'évolution de nos patients était marquée par la guérison dans un cas et l'abandon de traitement dans un autre cas. (Figure 26)

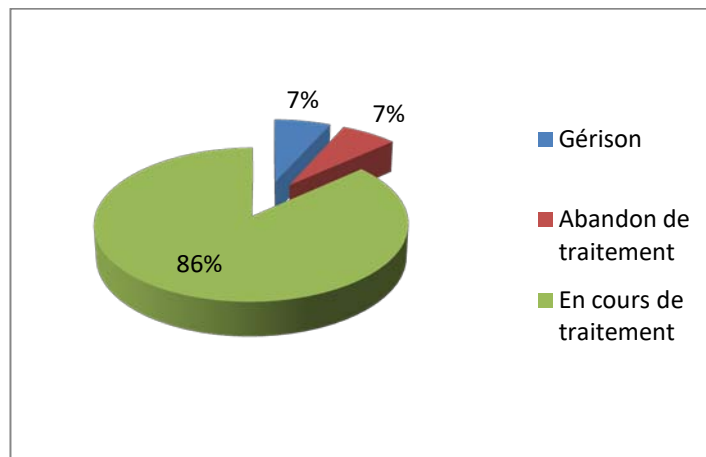


Figure 26: Evolution des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine pendant la durée d'étude

IV. L'ASSOCIATION ENTRE LES FACTEURS DE RISQUE ET LA RESISTANCE A LA RIFAMPICINE

L'analyse multivariée par la régression logistique des facteurs susceptibles d'être liés à la résistance du MTB à la rifampicine, nous a permis d'objectiver un seul facteur qui était lié de façon statistiquement significative, à savoir le traitement anti-bacillaire antérieur où le risque est multiplié par 8.9 (tableau 6).

Tableau VI: Analyse multivariée des facteurs de risque

FDR	Analyse multivariée		
	O.R	IC	P
Sexe: -Masculin % -Féminin %	0.385	[0.110 ; 1.440]	0.102
Age (année)	3.698	[0.559 ; 18.311]	0.092
Lieu de résidence : -Urbain % -Rural %	0.455	[0.102 ; 2.835]	0.377
VIH : -positif % -négatif %	4.421	[0.071 ; 90.289]	0.284
Tabagisme %	0.751	[0.128 ; 3.034]	1
Bas niveau socioéconomique %	2.073	[0.436 ; 7.988]	0.264
Traitement : -Antérieurement traité % -Nouveau cas %	8.940	[1.252 ; 393.730]	<0.001
Diagnostic : -TPM% -TEP%	2.579	[0.352 ; 114.979]	0.698



I. RAPPEL

I.1. Histoire de la tuberculose

La tuberculose existe probablement depuis la préhistoire, période s'étendant jusqu' à 3000 ans avant notre ère. En 2007, une équipe de paléontologues a trouvé, à l'ouest de la Turquie, des fragments osseux d'un fossile humain appartenant à l'espèce *Homo Erectus* et présentant des lésions intracrâniennes caractéristique d'une infection par *Leptomeningitis tuberculosa* à l'origine de la méningite tuberculeuse [7]. Cette étude soutient que la tuberculose remonterait à plus de 300 000 ans, ce qui reste à confirmer puisque le diagnostic établi reste prématuré [8]. D'autres analyses sont indispensables pour l'interprétation de ces lésions sur les fragments humains retrouvés sur le site de Kocabas. D'autres études non controversées, ont été faites à partir de lésions tuberculeuses trouvées sur des fragments d'os de momies originaires des trois continents. En Amérique, dans le Nord du Pérou ou encore dans le Sud du Chili, les lésions tuberculeuses trouvées dataient avant 6000 ans av.J.-C [9]. En Afrique, elles furent observées dans la région méridionale d'Egypte (2050 av.J.-C) [10] et en Asie, dans la population Chinoise, il y a 2000 ans [11]. Initialement appelée « phtisie », cette maladie souvent mortelle et la plus répandue de tous les temps, fut renommée « tuberculose » par Johann Lucas Schonlein en 1834 [12,13]. En 1679, pour la première fois François de Le Boe a identifié des nodules qui évoluent en abcès et cavités comme étant des lésions caractéristiques des patients phtisiques [14]. Ce n'est qu'en 1865 que Jean-Antoine Villemin a suspecté la nature microbienne de la tuberculose en reproduisant une infection analogue à la phtisie sur des lapins et des cochons d'Inde, et ce, après les avoir inoculés avec un homogénat préparé à partir de lésions tuberculeuses [12].

En 1882, Robert Koch annonce la découverte de l'agent pathogène de la tuberculose appelé bacille de Koch [15]. Gaspard Laurent Bayle (1774-1816) a prouvé que les bacilles tuberculeux sont la cause de la maladie, et non une conséquence de celle-ci. Le nom « tuberculose » a vu le jour suite à cette découverte de Bayle. Le terme tuberculose a été utilisé pour définir la maladie causée par ces tubercules. Cependant, c'est un peu plus tard que le

germe causant la tuberculose sera formellement identifié. Le 24 Mars 1882, Robert Koch rendit publique sa découverte de l'agent pathogène de la tuberculose (TB), *Mycobacterium tuberculosis*. Cette découverte a été rejetée par le monde scientifique, dans un premier temps, avant d'être acceptée mondialement. En 1905, il reçut le prix Nobel de médecine et de physiologie pour ses recherches scientifiques [15,16].

En 1895, Wilhelm Röntgen découvrit les rayons X, cette découverte conduira au développement de la technique de radiographie. En 1896, Bouchard décrit les premières applications des rayons X sur l'étude de la TB pulmonaire, cet examen devient rapidement indispensable pour le diagnostic et le suivi des patients tuberculeux.

L'introduction des sanatoriums (figure 27 et 28) fut un événement majeur de la fin du 19ème siècle pour le traitement antituberculeux. Ces établissements proposaient aux patients une nourriture équilibrée, une cure d'air frais, de lumière et de soleil.



Figure 27: Cartes postales anciennes de l'Hôpital de Ben Smim situé à la ville d'Azrou



Figure 28: timbre illustrant le sanatorium antituberculeux de Ben-Smim [18]

Une avancée déterminante est apportée par les bactériologistes français Calmette et Guérin en 1921, avec la mise au point du premier vaccin contre la tuberculose [19]. Ils arrivèrent à ce résultat grâce à des milieux de cultures spécifiques qui diminuaient la virulence de la bactérie de la tuberculose bovine (*M.bovis*). La technique de coloration mis au point par Paul Ehrlich (biologiste allemand, 1854–1915) fut améliorée par Ziehl et Neelsen en mettant en évidence une propriété déterminante dans la détection de ces bactéries : leur caractère acido-alcool-résistant.

Un nouveau challenge dans la lutte contre la tuberculose, la chimiothérapie vit le jour vers la fin de la seconde guerre mondiale. Dans ce sens, des tests furent menés avec des antibiotiques très réputés et souvent utilisés contre les maladies infectieuses ; la pénicilline et les sulfamides, sans effets sur *M.tuberculosis*. Le premier antibiotique isolé, l'actinomycine extraite de divers *Streptomyces*, inhibe la croissance de ces bactéries en bloquant la progression de l'ARN polymérase. Cette molécule découverte par Selman Abraham Waksman en 1940, fut trop toxique en thérapie humaine ou animale [20]. Elle laissa la place à la streptomycine, découverte 2 ans plus tard. Mais la monothérapie avec cette dernière entraînait l'apparition de souche résistante à la streptomycine. La combinaison avec d'autres antibiotiques comme l'acide paramino-salicylique (1949), l'isoniazide (1952), le pyrazinamide (1954), la cyclopyrine (1955), l'éthambutol (1962) et la rifampicine (1963), pallia ce problème.

I.2. Taxonomie

L'espèce *M. tuberculosis* appartient à la classe des actinobactéries, à l'ordre des Actinomycétales, à la famille des Mycobacteriaceae et au genre *Mycobacterium* [21]. Les mycobactéries comprennent plus de 100 espèces, il inclut les parasites obligatoires, les saprophytes ainsi que les formes intermédiaires. Ces espèces sont ubiquitaires et peuvent être détectées dans les échantillons cliniques ou dans les sources environnementales, elles peuvent être la cause de maladies diverses aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

Le genre *Mycobacterium* comprend le complexe « *Mycobacterium tuberculosis* » (MTBC), les mycobactéries non cultivables et les mycobactéries atypiques ou encore appelées «Mycobactéries Non Tuberculeuses» (MNT) (figure 29).

Le complexe *M.tuberculosis* est constitué de 7 sous-espèces : *M.tuberculosis* et *M.africanum* dont le réservoir naturel est préférentiellement humain, *Mycobacterium bovis*, *M.microti*, *M.pinnipedii* [22], *M.caprae* et *M.canettii* dont le réservoir naturel est animal [23,24]. Ces nouveaux candidats passant du statut d'espèce à sous-espèce, ont été mis en évidence par des techniques d'hybridation ADN /ADN, qui ont confirmé des homologies supérieures à 99% [25,26]. On voit apparaître de plus en plus de cas d'infection zoonotique par *M.microti* [24 ;27], *M.cannetti*, *M.tuberculosis* [28], cependant les cas les plus fréquents concernent *M.bovis* [29]. Les mycobactéries du MTBC sont des pathogènes spécifiques, génétiquement très liées [30], elles sont naturellement sensibles aux antituberculeux.

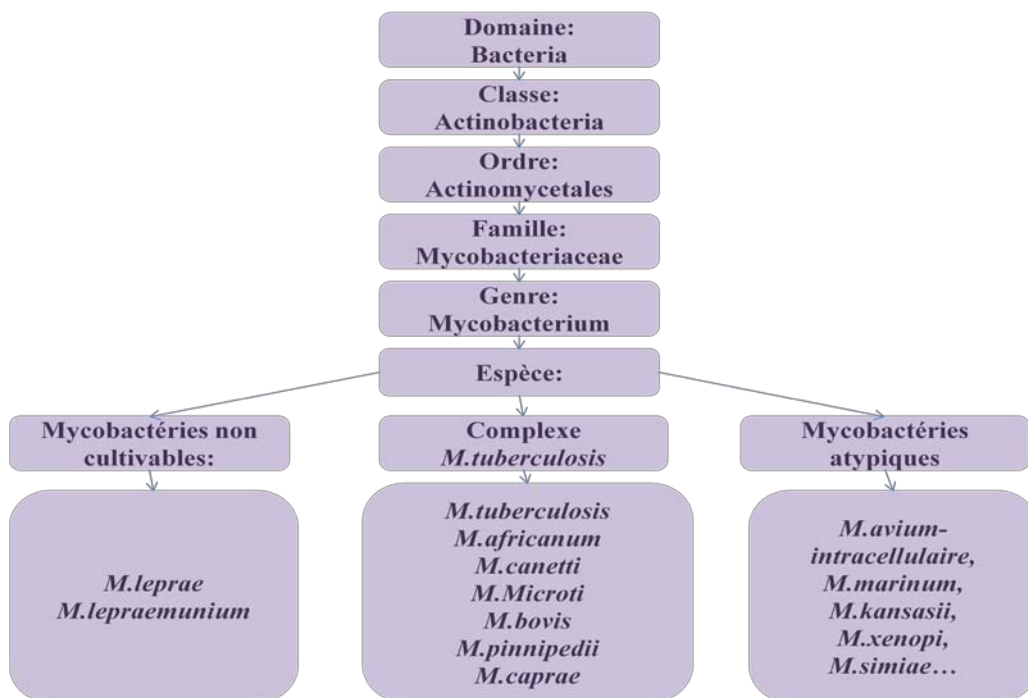


Figure 29: Représentation schématique des mycobactéries

I.3. Caractères bactériologiques

I.3.1. Caractères morphologiques

Les bacilles tuberculeux apparaissent généralement comme des bâtonnets droits ou légèrement incurvés. Selon les conditions de la croissance et de l'âge de la culture, les bacilles peuvent varier en taille et en forme à partir de courtes coccobacilles à de longs bâtonnets [31]. Les dimensions des bacilles ont été rapportées pour être 1–10 µm de long (généralement de 3 à 5 µm), et de 0,2 à 0,6 µm de largeur. (Figure 30 et 31). De ce fait, la longueur du micro-organisme est comparable au diamètre du noyau d'un lymphocyte [32].

M.tuberculosis est un parasite intracellulaire qui partage avec les autres mycobactéries la caractéristique de posséder une forte teneur en lipides (40–60% du poids sec de la paroi) [33]. Parmi ces lipides, les acides mycoliques confèrent aux mycobactéries une particularité de coloration dénommée acido-alcool résistance qui permet de les différencier de la majorité des autres bactéries lors de la coloration de Ziehl–Neelsen.

L'enveloppe des mycobactéries est constituée schématiquement de l'intérieur vers l'extérieur, d'une membrane plasmique semblable, croit-on, à celles d'autres bactéries. D'une paroi, composée outre de peptidoglycane, d'acides mycoliques exclusifs aux mycobactéries et à l'arabinogalactane, qui forme une barrière hydrophobe, les protéines de transport dans la membrane plasmique et les porines dans la couche d'acide mycolique permettent le passage de substances hydrophiles. Au-dessus de cette couche se trouve une capsule, (ou pseudocapsule car elle n'est pas liée par covalence au reste de l'enveloppe) constituée de polysaccharides, de protéines et de lipides [34]. La technique de cryo-microscopie électronique en section vitreuse (CEMOVIS, Cryo–Electron Microscopy of Vitreous Sections) a récemment permis de visualiser la structure fine de l'enveloppe et de mettre en évidence une bicouche lipidique appelée mycomembrane (ou membrane externe) [35,36]. L'épaisseur de la mycomembrane ou membrane externe a été estimée à 7–8 nm pour les mycobactéries. [37,38]. (Figure 32).



Figure 30: Aspect microscopique de *Mycobacterium Tuberculosis* après coloration de Ziehl-Nielsen [31]

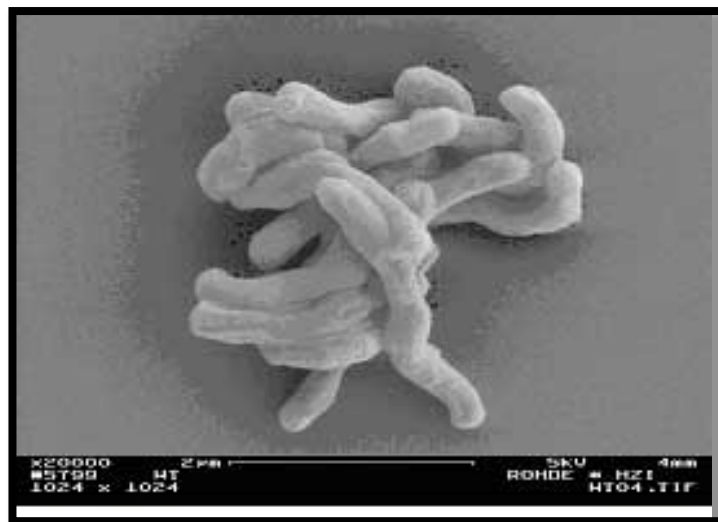


Figure 31: image de *Mycobacterium tuberculosis* par microscope électronique (Courtesy of M. Rohde -M. Singh) [31]

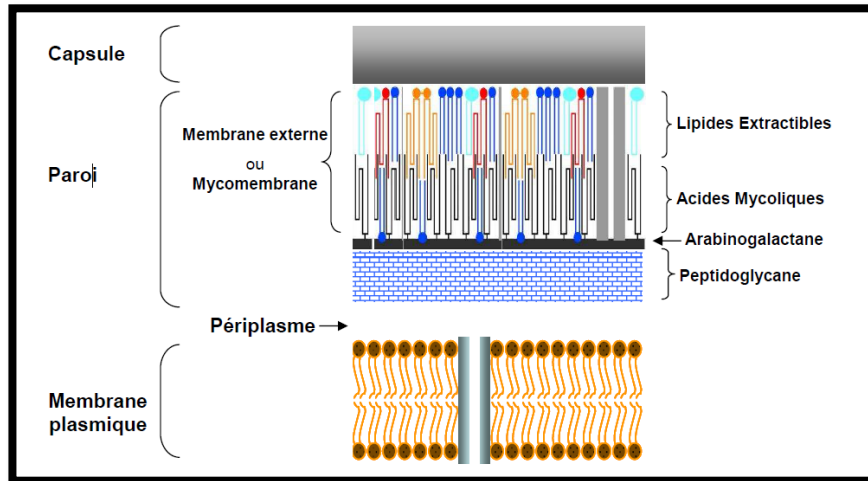


Figure 32: Modèle d'organisation de l'enveloppe des mycobactéries [35 ;39]

Au niveau de la mycomembrane, les acides mycoliques sont modélisés en noir, en bleu foncé : les phospholipides (longueur 16- à 18- carbone), en bleu clair : les GPLs, en gris clair : les porines, en orange : les dimycolate de tréhalose, en rouge : les monomycolate de tréhalose. Les acides mycoliques et les mycolates de tréhalose sont repliés selon la conformation proposée par Villeneuve et collaborateurs [40,41]. Les phospholipides de la membrane plasmique sont représentés en orange et marron.

I.3.2. Caractères cultureux

La qualité nutritionnelle de l'environnement détermine le mode de vie du bacille et ses limites, que ce soit dans l'habitat naturel ou dans les milieux de cultures, comme la disponibilité de l'oxygène, la température, le pH et la salinité.

Les bacilles ont la capacité de s'adapter à n'importe quel environnement et ce en adoptant différents modes physiologiques les rendant à même de survivre dans les piètres conditions. Il a été prouvé que durant l'infection des souris par le *M. tuberculosis*, son métabolisme peut passer d'un mode aérobie, carbohyrate-métabolisant à un autre mode plus microaérophile utilisant des lipides [42].

Ces démonstrations, qui ont été rapportées il y a longtemps, ont été soutenues ces derniers temps par le séquençage complet du génome de *M. tuberculosis* dans lequel un nombre inhabituellement élevé de gènes supposés impliqués dans le métabolisme des acides gras ont été identifiés. Ce phénomène peut être lié à la capacité du pathogène de croître ou de persister dans les tissus hôtes où les acides gras peuvent être la principale source de carbone [43].

In vitro, les membres du complexe *M. tuberculosis* ne sont pas endommagés par certains agents nocifs. En fait, le milieu utilisé par Koch pour cultiver *M. tuberculosis* était simplement du sérum sanguin coagulé stérile. Les bacilles tuberculeux peuvent également croître dans des solutions salines utilisant du glycérol comme source de carbone, des ions ammonium et de l'asparagine comme sources d'azote, et des micronutriments. L'albumine, qui est normalement fournie par l'ajout d'œufs ou de sérum d'albumine bovine aux milieux de culture, favorise la croissance de ces microorganismes [44].

Le magnésium et le fer sont essentiels à la vie. Une carence de ces éléments réduit fréquemment la virulence des bactéries, y compris le bacille tuberculeux.

Dans la nature, le bacille se développe mieux dans les tissus à forte concentration d'oxygène avec une tension partielle, tels que les poumons dont les lobes supérieurs, en particulier, sont bien aérés. Le dioxyde de carbone est aussi essentiel et peut être prélevé dans l'atmosphère. En laboratoire, une atmosphère de 5 à 10% de ce gaz favorise la croissance de la culture, au moins pendant la phase initiale d'incubation [31].

M. tuberculosis est mésophile et neutrophile, sa multiplication étant limitée à des conditions offertes par les animaux à sang chaud: environ 37 ° C et un pH neutre. Les intervalles de température et d'ions d'hydrogène, dans lesquels le bacille est capable de se multiplier, sont relativement étroits. Une concentration saline élevée telle que celle trouvée dans un milieu contenant du chlorure de sodium à 5%, inhibe sa croissance.

Dans des conditions de laboratoire favorables, *M. tuberculosis* se divise toutes les 12 à 24 heures. Ce rythme est extrêmement lent par rapport à celui de la plupart des bactéries cultivables, qui se reproduisent à des intervalles réguliers allant d'environ 15 minutes à une heure.

Le taux de croissance lent pourrait être partiellement dû à l'imperméabilité de la paroi cellulaire qui limite l'absorption des nutriments. Cependant, un simple stimulus minimal de la multiplication bactérienne est obtenu lorsque la perméabilité est augmentée par le traitement avec certains composants qui interagissent avec l'enveloppe cellulaire. Hershey et

Ramakrishnan ont identifié la synthèse de l'acide ribonucléique (ARN) comme un facteur important lié à la longue génération du bacille tuberculeux. Ils ont démontré que le taux d'ARN par rapport à l'ADN et le taux d'allongement de la chaîne d'ARN sont dix fois plus faibles chez *M. tuberculosis* comparativement à *E. coli* [45]. De plus, lorsque le bacille de la tuberculose passe de la phase stationnaire à la phase active de multiplication, sa teneur totale en ARN augmente seulement de deux fois. Par conséquent, la synthèse des protéines doit être retardée [46]. Et donc, l'influence de la disponibilité des éléments nutritifs sur la vitesse de synthèse des ribosomes, qui est un indicateur de l'activité métabolique, demeure controversée [47].

I.3.3. Caractères biochimiques

La niacine (acide nicotinique) joue un rôle vital dans la vie organique, car elle intervient dans les réactions d'oxydoréduction du métabolisme énergétique et dans les processus de réparation de l'ADN. Bien que toutes les mycobactéries produisent de la niacine, la plupart d'entre elles l'emploient dans la synthèse des coenzymes. En revanche, *M. tuberculosis* produit et accumule des quantités importantes de niacine résultant d'un processus de dégradation très active du dinucléotide nicotinamide-adénine et de l'incapacité de traiter la niacine résultante [48]. In vitro, *M. tuberculosis*, "*M. Canettii* ", et certains isolats de *M. africanum* excrètent la niacine hydrosoluble dans les milieux de culture, dont la détection est extrêmement utile pour l'identification définitive.

Comme beaucoup d'aérobies, y compris d'autres mycobactéries, le bacille tuberculeux dépend de certaines enzymes pour détoxifier les radicaux oxygénés mortels, tels que les peroxydes et H₂O₂, qui sont autogénérés pendant la respiration ou produits par les phagocytes de l'hôte. La principale enzyme antioxydante de *M. tuberculosis* qui peut hydrolyser le H₂O₂ est une catalase-peroxydase thermolabile avec à la fois des activités de catalase et de peroxydase. La stabilité thermique de cette enzyme est un marqueur du complexe de *M. tuberculosis*. Ce dernier a également une alkyl-hydroperoxydase alternative, qui est supposée compenser le manque d'activité catalase. Paradoxalement, la catalase n'est

pas seulement autoprotectrice mais peut également être autodestructrice car elle active le promédicament antituberculeux INH.

Même si *M. tuberculosis* préfère l'ammonium et l'asparagine, il peut utiliser de façon insuffisante les nitrates et les nitrites comme seules sources d'azote in vitro. *M. tuberculosis* a une enzyme liée à la membrane cellulaire qui réduit rapidement le nitrate et conduit à l'accumulation de nitrite. Contrairement aux autres mycobactéries, Tuberculose nitrate réductase est en permanence très active in vitro indépendamment des conditions de culture [49].

M. tuberculosis est capable de produire de l'ammoniac à partir de l'urée par une réaction induite par l'uréase. L'ammonium peut ensuite être utilisé par le microorganisme pour la biosynthèse. Elle peut également être importante pour l'acquisition d'azote, son activité augmente lorsque les sources d'azote sont limitées [50]. De plus, l'alcalinisation consécutive du microenvironnement par les ions d'ammonium pourrait inhiber la maturation des phagolysosomes et contribuer à la maturation défectueuse des molécules majeures d'histocompatibilité de classe II des monocytes hôtes [51].

I.3.4. Caractères antigéniques

Le lipoarabinomannane est un glycolipide de haut poids moléculaire, résistant à la température, composant majoritaire de la paroi bactérienne [52]. Cette molécule n'est pas spécifique pour le complexe MTB mais plusieurs groupes ont montré la présence de concentrations mesurables de lipoarabinomannane dans les expectorations [53] ou dans les urines des patients atteints de tuberculose [54].

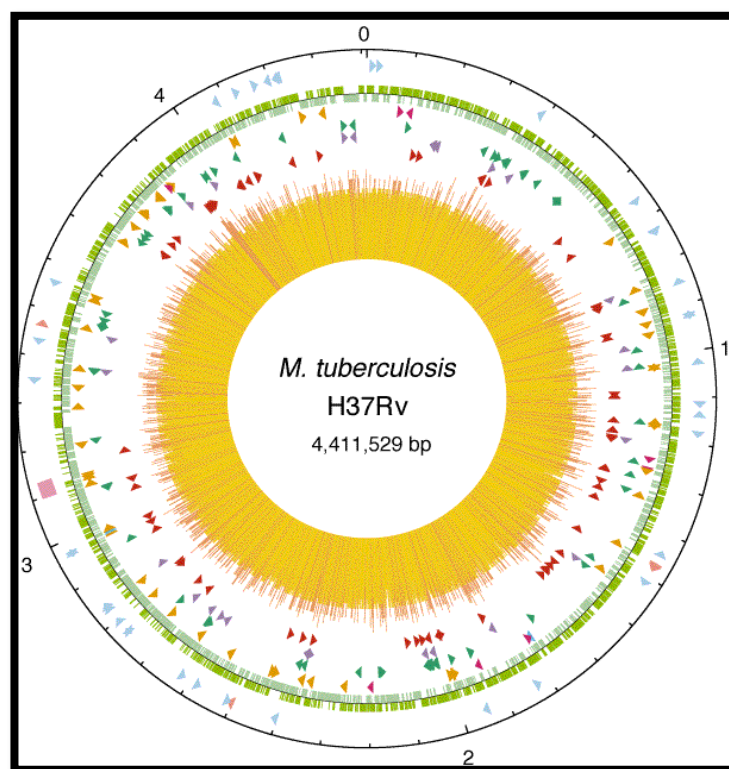
L'antigène MPT64, est une protéine incriminée dans la virulence et sécrétée par les mycobactéries du complexe *tuberculosis* à l'exception de certaines souches de *M. bovis* BCG, dont la souche vaccinale Pasteur [55].

I.3.5. Caractères géniques

La recherche sur la tuberculose a fait d'énormes progrès avec la disponibilité de la séquence génomique de la souche type *M. tuberculosis* H37Rv. Qui a révélé une séquence de

4 411 529 pb, dont 3989 gènes (Figure 33), et se caractérise par un contenu en guanine et cytosine (G+C) élevé estimé à 65.6% [56,57]. Une caractéristique qui a été associée plus souvent aux procaryotes aérobies [58].

Il existe un certain nombre de séquences d'ADN répétitives dans le génome de *M. tuberculosis*, y compris les séquences d'insertion (IS), la région de répétition directe (DR), les répétitions en tandem polymorphiques principales (MPTR) et la séquence répétitive polymorphe riche en GC (PGRS) [59].



Le cercle extérieur montre l'échelle dans Mb, avec 0 représentant l'origine de la réplication. Le premier anneau de l'extérieur indique les positions des gènes d'ARN stables (les ARNt sont bleus, d'autres sont roses) et la région de répétition directe (cube rose); Le deuxième anneau vers l'intérieur montre la séquence codante par brin (dans le sens des aiguilles d'une montre, vert foncé, dans le sens inverse des aiguilles d'une montre, vert clair); Le troisième anneau représente l'ADN répétitif (séquences d'insertion, orange, famille 13E12 REP, rose foncé, prophage, bleu); Le quatrième anneau indique les positions des membres de la famille PPE (vert); Le cinquième anneau montre les membres de la famille PE (violet, excluant PGRS); Et le sixième anneau montre les positions des séquences PGRS (rouge foncé). L'histogramme (centre) représente le contenu G + C, avec <65% G + C en jaune et > 65% G + C en rouge [56].

I.4. Caractères épidémiologies

I.4.1. Mode de transmission

L'infection tuberculeuse se transmet essentiellement par voie aérienne à partir d'un malade atteint de tuberculose pulmonaire, bronchique ou de la sphère orolaryngée. Lorsque le patient tousse ou éternue, il émet des particules infectantes. Il s'agit des « gouttelettes de Flugge » qui peuvent rester en suspension dans l'air et qui sont susceptibles d'être inhalées par les sujets contacts. Les autres modes de contamination telle la voie digestive ou cutanéomuqueuse sont exceptionnelles [60].

La contagiosité d'un patient est liée à la quantité de bacilles présents dans ses crachats. Les patients positifs à l'examen microscopique direct des crachats sont de loin les plus contagieux. Ceux positifs à la culture mais négatifs à l'examen microscopique sont moins contagieux. Les patients dont la microscopie et la culture de crachats sont négatifs ne sont habituellement pas contagieux. En général, le risque d'infection chez les contacts familiaux des patients tuberculeux est de 30% [61]. La transmission est rapidement réduite avec un traitement efficace. [62,63]

I.4.2. Mode de diffusion

Si les quelques bacilles contenus dans les gouttelettes de Flugge parviennent au niveau des alvéoles pulmonaires, ils peuvent alors se multiplier et être à l'origine d'une primo-infection tuberculeuse (PIT). Lors d'une PIT, les bacilles tuberculeux sont phagocytés par des macrophages dans lesquels ils vont survivre et pouvoir se multiplier. Après quelques **Figure 33: Représentation schématique du génome de *M. tuberculosis* H37Rv** jours de multiplication, les macrophages migrent passivement vers les ganglions satellites du foyer primaire par les vaisseaux lymphatiques. Il y a alors dissémination des bacilles tuberculeux dans l'organisme et activation des lymphocytes T. Une immunité cellulaire retardée se développe, perceptible par le test cutané à la tuberculine ou intradermoréaction (IDR). Au niveau des alvéoles pulmonaires, il se forme alors un granulome ou tubercule constitué d'un noyau de macrophages infectés dégénérés (épithélioïdes) ou fusionnés, entouré de lymphocytes T et d'une couronne fibroblastique [64] (Figure 34). Au centre du

granulome, contenant des bacilles tuberculeux quiescents, il peut apparaître une nécrose riche en lipides ou caséum. Cette lésion n'est généralement pas repérable cliniquement (asymptomatique) ou par radiographie mais peut néanmoins être détectée par IDR.

Pour les patients immunocompétents, on estime que dans 5% des cas, la PIT peut évoluer en tuberculose maladie ou tuberculose patente dans les 2 ans qui suivent la primo-infection et que dans 5 autres pourcents, cette évolution ne se fera que plusieurs années plus tard [65]. De nombreux facteurs influencent cette transition telle que l'âge du patient infecté (enfants de moins de 15 ans et personnes âgées) ou son statut immunitaire (personnes immunodéprimées) [65]. Chez des patients immunodéprimés, cette évolution est beaucoup plus fréquente puisqu'on estime que 50% des patients immunodéprimés infectés par *M.tuberculosis* développeront une tuberculose maladie dans les deux ans suivant leur infection. De plus, il a été montré qu'un taux de 5 à 10% des patients porteurs d'une tuberculose latente et contractant le VIH développent une tuberculose maladie par an [65,66].

Lors de la transition de la tuberculose latente en tuberculose pulmonaire, il y a évolution du granulome par liquéfaction du caséum et création d'une cavité très riche en bacilles tuberculeux viables. Les bacilles retrouvent des conditions favorables à leur évolution (présence d'oxygène), et reprennent leur multiplication. Ils envahissent alors l'ensemble des bronches entraînant une réaction inflammatoire intense provoquant toux et expectoration chronique. C'est à ce stade que le patient est le plus contagieux [67]. Après dissémination via la circulation sanguine et lymphatique de bacilles tuberculeux, ceux-ci peuvent se développer et provoquer des lésions dans de nombreux autres organes tels que les os (mal de Pott), les méninges (méningite tuberculeuse), les reins, etc. On parle alors de tuberculose extra-pulmonaire.

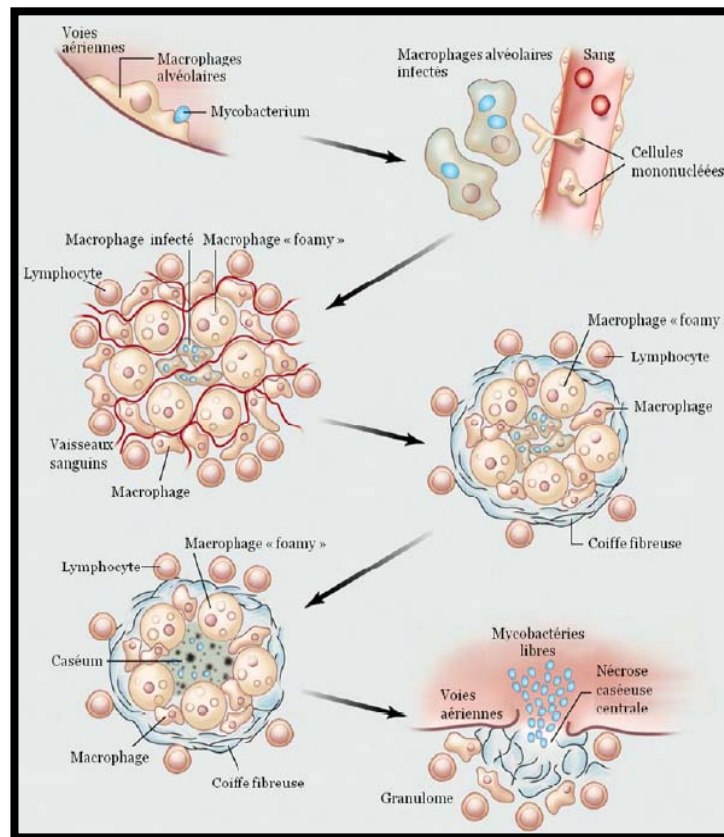


Figure 34: le cycle infectieux du *M.tuberculosis* [68]

I.4.3. Facteurs favorisants

Le degré de contact entre une personne atteinte de tuberculose contagieuse et son entourage, détermine le niveau de risque de transmission. En fait, ce dernier dépend à la fois de la notion de confinement, de proximité et de durée du contact [69]. Toutefois, il n'existe pas un seuil minimal de durée mettant à l'abri de ce risque, qui peut se manifester en un contact unique en cas de manœuvres médicales [71].

En effet, quelles que soient les circonstances, la maladie tuberculeuse est le résultat d'un déséquilibre entre la charge bactérienne tuberculeuse (les bacilles présents dans l'organisme) et les défenses de l'organisme incapables, pour diverses raisons, de s'opposer à la multiplication des bacilles. Chez les enfants la maturation immunitaire est un déterminant majeur chez les nourrissons (<2 ans) étant au plus haut risque de développement de la maladie et de sa diffusion potentielle [71]. Les facteurs de risque pour la maladie de tuberculose qui découlent de ces notions peuvent être cumulés (tableau 7) [72].

Par ailleurs, Le rôle de facteurs génétiques dans la prédisposition à la tuberculose a été suggéré par plusieurs études épidémiologiques, comme la mise en évidence de fortes différences interethniques, qui montre, en particulier, une prévalence de la maladie plus forte dans les populations d'origine africaine que dans celles d'origine caucasienne [73].

Tableau VII: Facteurs de risque pour la tuberculose maladie [72]

En rapport avec le contage tuberculeux	En rapport avec l'insuffisance des moyens de défense
<ul style="list-style-type: none"> - Contage récent ou répété -Tuberculoses non ou insuffisamment traitées -Expositions professionnelles -Promiscuité -Séjour ou migration en provenance d'une zone de haute prévalence de tuberculose 	<ul style="list-style-type: none"> -Enfants, surtout de moins de 2 ans -Adolescents, jeunes adultes, sujet de plus de 65 ans -Traitement immunodépresseur -Affections diverses : infection à VIH, dénutrition, diabète, IRCT, gastrectomie, etc.

I.4.4. Statistiques épidémiologique

1.4.4.1. Statistiques mondiale

La tuberculose est une maladie relevant de la santé publique par son caractère potentiellement épidémique. Elle figure sur la liste des maladies à déclaration obligatoire, de ce fait, l'émergence d'éventuelles épidémies est fortement surveillée d'autant plus que l'incidence et la prévalence de l'infection dans certains pays sont préoccupantes.

Bien que l'incidence mondiale de la tuberculose ait tendance à décroître, cette maladie représente un fléau menaçant pour de nombreuses populations. L'épidémie globale de tuberculose semble être liée à la pauvreté, la promiscuité, les conditions de vie précaires, ou d'autres aspects socio-démographiques et socio-économiques difficiles [74,75].

En 2015, on 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 (figure 35) [1].

En 2015, le plus grand nombre de nouveaux cas de TB a été enregistré dans Six pays représentant 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 [1].

La tuberculose reste l'une des maladies transmissibles causant le plus de décès dans le monde. Selon les estimations, 1,4 million de décès en 2015 étaient dus à la tuberculose et 0,4 million de décès supplémentaires concernant les cas de tuberculose chez les personnes vivant avec le VIH. Bien que le nombre de décès par tuberculose a baissé de 22 % entre 2000 et 2015, la tuberculose demeure l'une des 10 principales causes de décès dans le monde en 2015 [1].

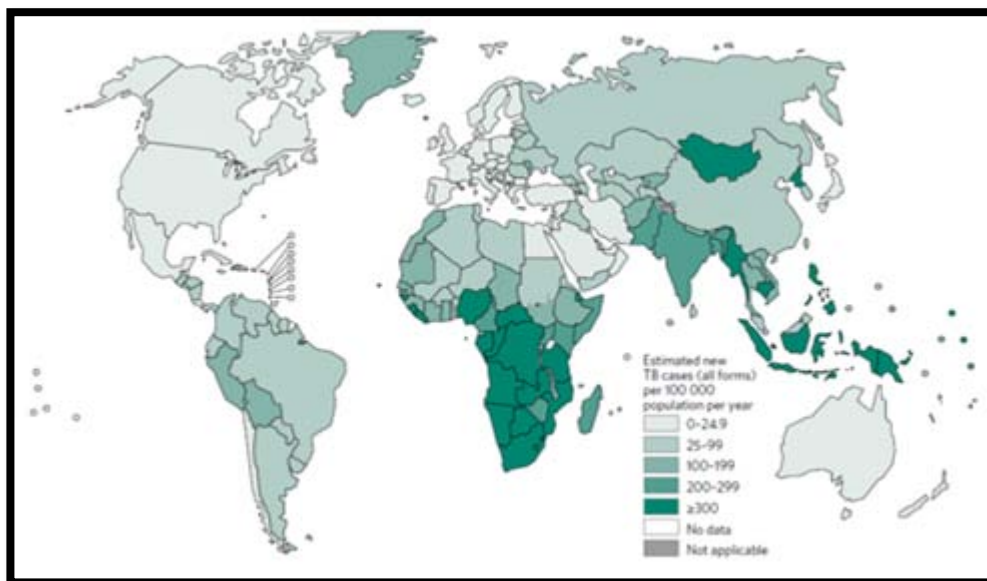


Figure 35: Incidence de la tuberculose par pays, 2015 [1]

L'OMS estime que la lutte mondiale contre la TB est confrontée à la propagation des bacilles MDR et XDR dans toutes les régions du monde. La forme ultra-résistante (UR ou TB-XDR) concerne 9.5 % des patients présentant une tuberculose MR notifiée. Environ 3,9% des

nouveaux cas de TB dans le monde sont dus à des souches multi-résistantes, cette proportion est bien plus grande chez les patients déjà traités et atteint 21% en 2014. En 2015, on 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. La fréquence de la TB-MDR varie sensiblement d'un pays à l'autre. 45 % du total de 580 000 cas sont concentrés en Inde, en Chine et en Fédération de Russie (figure 36, 37 et 38) [1].

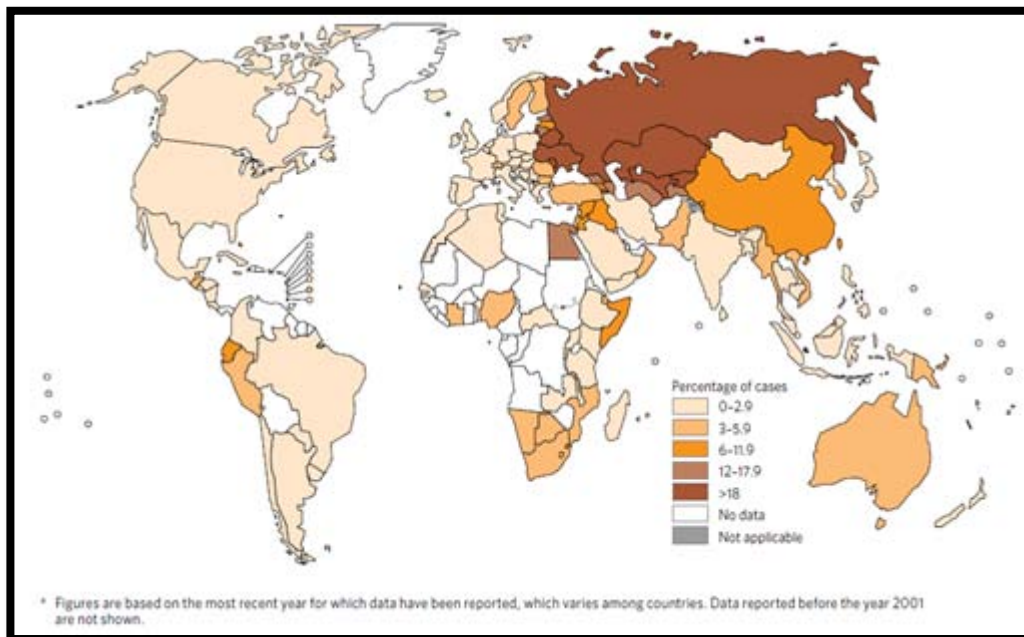


Figure 36: Cas notifiés de la TB-MDR chez les nouveaux cas, 2015 [1]

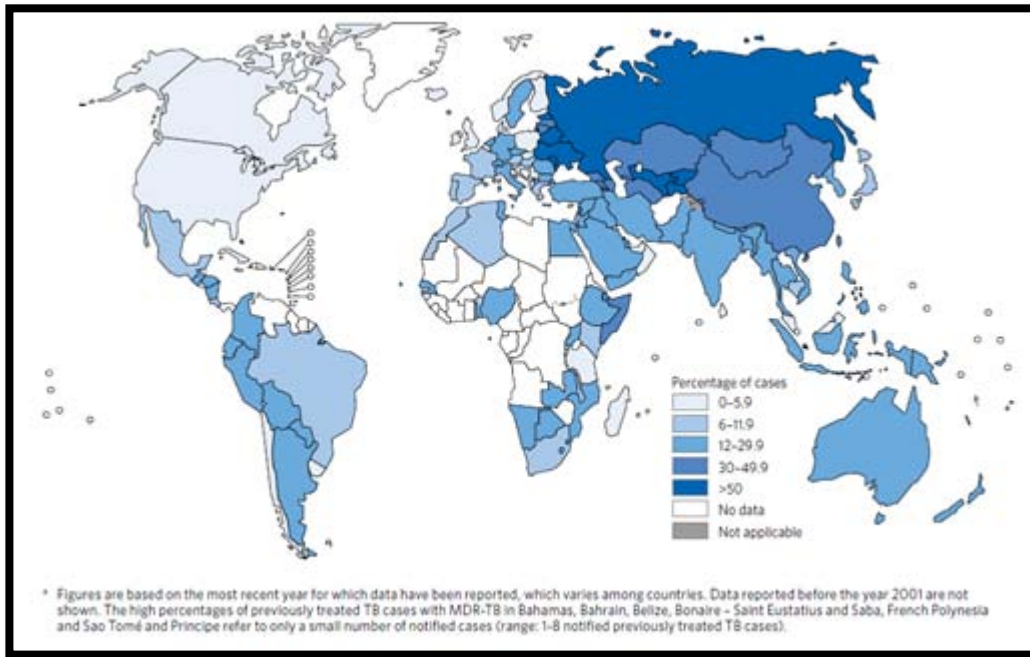


Figure 37: Cas notifiés de la TB-MDR chez les cas antérieurement

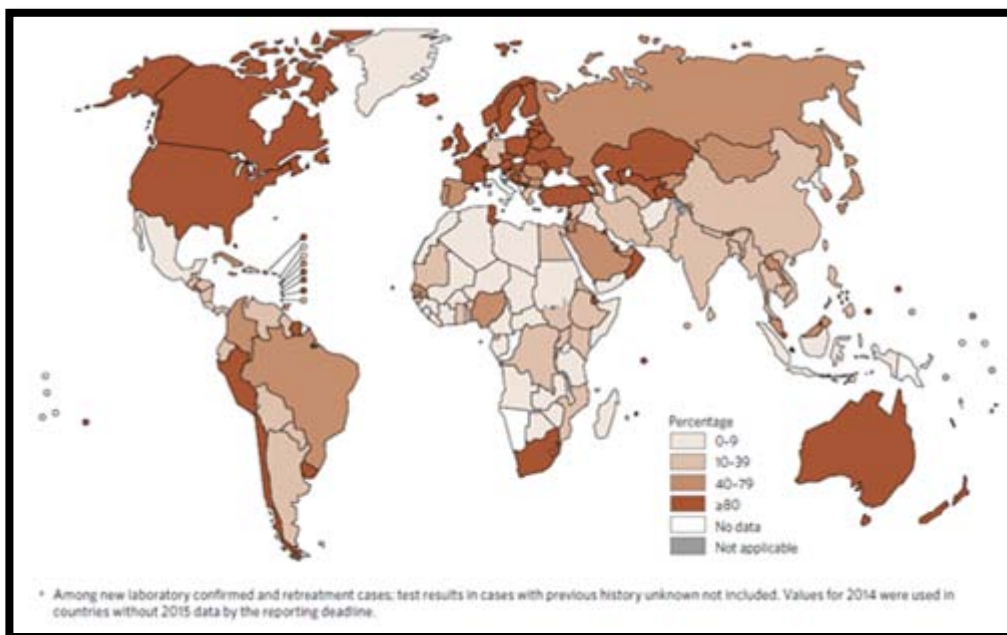


Figure 38: Pourcentage de cas de tuberculose confirmés bactériologiquement testés pour la tuberculose résistante à la rifampicine, 2015 [1]

Par ailleurs, En 2015, 7579 cas de TB-XDR ont été détectés par 74 pays, dont 7234 patients ont été inscrits au traitement (plus du double du niveau en 2014). (Figure 39). La

plupart des cas en 2015 ont été notifiés par l'Inde (2130), l'Ukraine (1206), la Fédération de Russie (1205) et l'Afrique du Sud (719) [1].

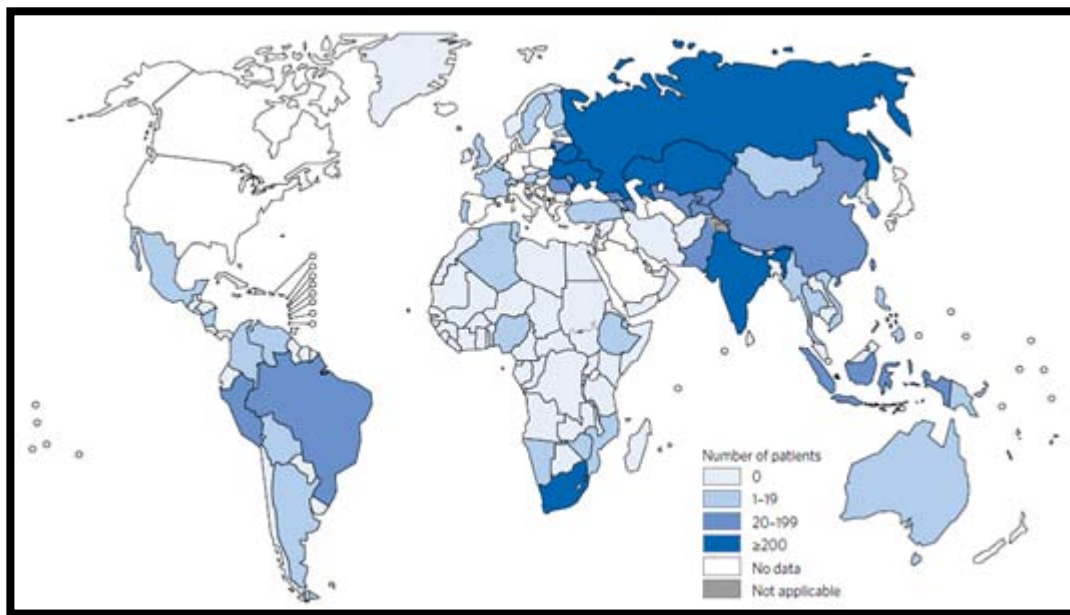


Figure 39: Patients avec TB-XDR confirmé, ayant commencé le traitement en 2015[1]

Récemment, plusieurs rapports ont décrit une nouvelle forme de résistance, il s'agit d'une TB totalement résistante (TB-TDR) [76,77]. Cette définition est confrontée au fait que pas tous les laboratoires testent tous les ATB. Aussi, il n'y a pas une liste consensus pour tous les ATB et enfin, le fait de donner la nomenclature TDR laisse penser que cette forme de résistance est incurable et que les patients ne seront pas traités par les ATB disponibles [77].

1.4.4.2. Statistiques national

La tuberculose demeure un problème majeur de santé publique au Maroc.

Un total de 31.542 cas de tuberculose, toutes formes confondues, a été notifié définissant une incidence de 91 cas pour 100 000 habitants. La proportion de la forme extrapulmonaire (TEP) était la plus élevée, avec 53% des cas, contre 47% des cas de tuberculose pulmonaire [2].

En 2016, 238 patients ont développé une TB pharmaco-résistante [2].

La maladie affecte les hommes plus que les femmes avec un sexe ratio de 1,5. Dans près de 63% des cas, la TB touche une population jeune et active d'âge compris entre 15 et 45 ans, réduisant ainsi leur capacité d'activité et le rendement économique de la communauté [2].

Selon le système de surveillance épidémiologique, 87% des cas notifiés sont concentrés dans les zones les plus urbanisées et les plus peuplées du pays (78% de la population nationale), notamment les régions de Casablanca-Settat, Rabat-Salé-Kénitra, Tanger-Tétouan-Al-Hoceima, Fès-Meknès, Marrakech-Safi et Souss-Massa avec une incidence dépassant la moyenne nationale [2]. (Figure 40).

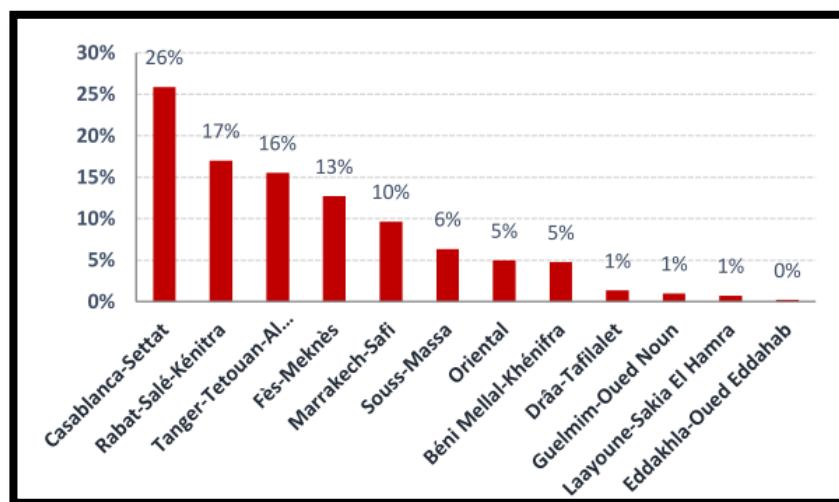


Figure 40: Distribution proportionnelle, par région, des cas de TB rapporté en 2016[2]

L'atteinte de la cible 6-C des Objectifs du Millénaire pour le Développement, a inversé la tendance de TB entre 1990 et 2015 ; selon les données officielles de l'OMS pour le Maroc : l'incidence estimée par l'OMS a baissé de 27% et la mortalité a baissé de 59% (figure 41) [2].

Cela a été possible grâce aux performances du Programme National de Lutte Antituberculeuse (PNLAT), notamment : le taux de détection de TB, passé de 75% à 83%, a permis de diagnostiquer et de prendre en charge de plus en plus de cas prévalant ; le taux de succès thérapeutique a été maintenu à plus de 86% depuis 1995 ; le taux d'interruption du

traitement et de perdus de vue a été abaissé à 7,4% ; la prévalence de TB multi-résistante a été maintenue très basse : 1% de résistance primaire et 8,7% de résistance secondaire [2].

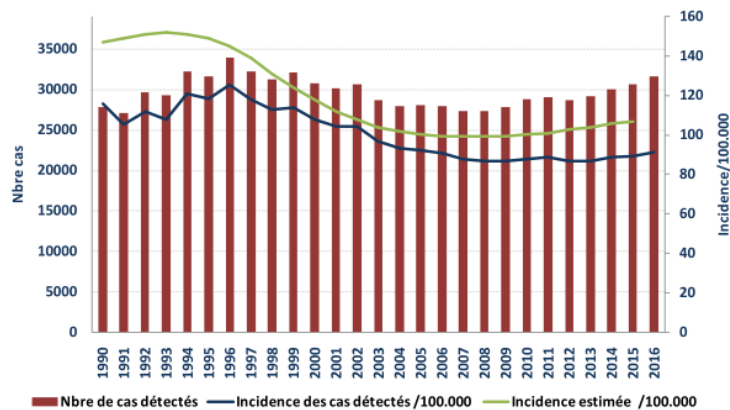


Figure 41: Evolution du nombre de cas et de l'incidence de la TB au Maroc, 1991-2016 [2]

➤ Physiopathologie :

Une fois inhalés, les bacilles tuberculeux sont déposés au niveau des espaces alvéolaires distaux, le plus souvent au niveau des zones pulmonaires supérieures, où ils sont phagocytés [79]. Leur survie dans le poumon dépendra de leur pathogénicité, de leur virulence et de la capacité des cellules hôtes pour les éliminer. Les macrophages alvéolaires et les cellules dendritiques (CD) sont la première ligne de défense contre le *Mycobacterium tuberculosis* (immunité innée) [80]. Ces bactéries ingérées sont ensuite détruites par phagosome-lysosome fusion et acidification (par H₂O₂ et d'autres oxygène réactif intermédiaires) mais le *M. tuberculosis* peut renverser ce processus et échapper à la destruction [81].

Les cellules dendritiques activées, migrent jusqu'aux ganglions, y présentent les peptides bactériens aux lymphocytes T CD4 naïfs, qui après différenciation, retournent dans le poumon orchestrer la réponse anti-infectieuse. On y retrouve les trois types cellulaires indispensables à une réponse protectrice contre le BK : les macrophages, les lymphocytes T CD4 Th1 et les lymphocytes T CD8. Les lymphocytes T CD4 Th1 sont les cellules principales de la réponse anti-*M. tuberculosis*, et les cytokines majeures sont l'IFN γ , l'interleukine 2 (IL-

2) et le facteur de nécrose des tumeurs alpha (TNF α). L'IFN γ a un rôle pivot pour l'activation des macrophages [82]. Les lymphocytes T CD8, capables aussi de produire de l'IFN γ , ont pour rôle de lyser les macrophages infectés et inefficaces [83].

Au niveau des ganglions, les cellules dendritiques infectées, participent à la dissémination du *M.tuberculosis* par voie lymphatique. Cette dissémination est à l'origine des formes extrapulmonaires. La survie des macrophages infectés permet aux mycobactéries de persister et même de proliférer avant que la réponse immunitaire adaptative sera activée par les cellules T spécifique qui ont été sélectionnés dans les ganglions lymphatiques régionaux; généralement dans 2–3 semaines après l'infection primaire [84]. Cela aboutit à la formation de la lésion initiale pulmonaire (granulome primaire) (figure 42).

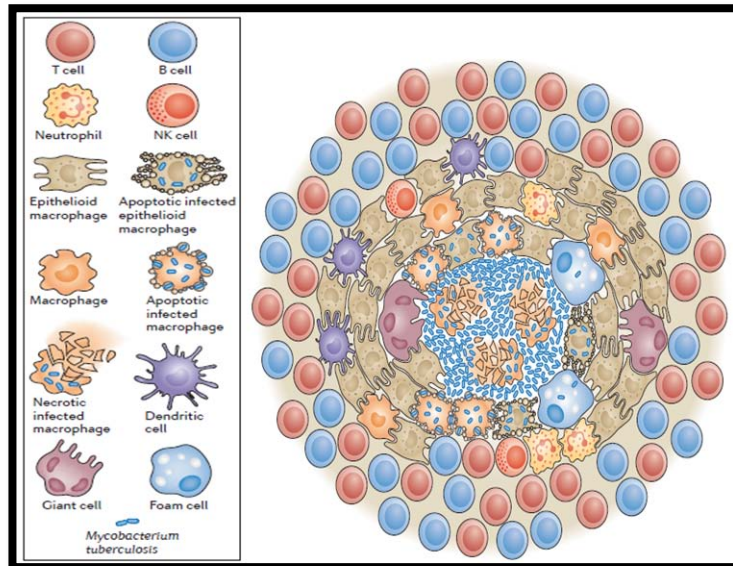


Figure 42: Structure et constituants cellulaires du granulome tuberculeux [85]

L'infiltration tardive du granulome primaire par les CD4+ et CD8+ va aboutir à la formation d'un granulome plus large et plus organisé, dont il apparait une nécrose riche en lipides (nécrose caséuse) qui est très évocatrice d'une infection par le bacille de la tuberculose sur les coupes histologiques.

L'infection par *Mycobacterium tuberculosis* se caractérise par une réponse immunitaire spécifique essentiellement de type cellulaire, accompagnées par l'immunité à médiation humorale. Lu et al.[86] ont constaté que les anticorps produits chez des personnes

atteintes de tuberculose latente sont plus efficaces pour inhiber in vitro la croissance de *M. tuberculosis* que ceux qui sont produits chez des personnes atteintes d'une maladie active. Plus précisément, les chercheurs ont constaté que les IgG obtenues chez des personnes présentant une infection latente étaient supérieures aux IgG obtenues chez des personnes ayant une infection active en ce qui concerne la promotion de l'activation de l'inflammasome, la fusion phagolysosomale et la destruction des mycobactéries phagocytées par les macrophages. Zimmermann et al. [87] ont comparé les anticorps monoclonaux IgA avec les anticorps monoclonaux IgG et ont constaté que les isotypes IgA inhibaient l'infection d'une lignée cellulaire épithéliale et que les isotypes IgG favorisaient l'infection. De même, la maîtrise des propriétés antimicrobiennes des anticorps pour la prévention et le traitement de la tuberculose n'a pas été réussie [88].

Le développement du granulome est asymptomatique, son diagnostic repose sur la positivité de la réaction cutanée à la tuberculine (RTC), témoin de l'allergie tuberculique, ou la libération in vitro d'IFN γ par les lymphocytes sensibilisés par *M.tuberculosis*: interferon gamma release assay (IGRA) [72]. La nécrose caséuse s'accumule dans le granulome et se ramollit, ce qui aboutit à la nécrose et au collapsus du granulome avec la formation d'une caverne pulmonaire. Cette caverne peut s'ouvrir dans une bronche. A partir des lésions cavitaires ouvertes, les bacilles vont être dispersés à l'occasion de la toux dans l'air pour contaminer d'autres personnes.

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 [89,90]. 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 [79,91].

Dans les 10 % de cas restant, l'infection n'est pas maîtrisée et le bacille continue de se multiplier → phase de progression rapide vers la maladie tuberculeuse immédiatement après l'infection ou au contraire après une phase de latence qui peut durer plusieurs années. On estime que le risque cumulé de développer une TB maladie est de 10% sur toute une vie.

La moitié des cas de TB maladie surviennent dans les 2 ans qui suivent le contage. Les personnes immunodéprimées sont plus à risque de développer une TB maladie.

I.5. Aspect clinique

I.5.1. La tuberculose pulmonaire

I.5.1.1. 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 [92,93].

Dans environ 10 % des cas, la PIT est symptomatique ou patente, associée à des manifestations cliniques et/ou radiologiques [79]. Le tableau clinique peut être réduit à l'association d'une cause bien précise identifiée, voire à une simple asthénie isolée. D'autres manifestations sont l'érythème noueux, la kératoconjonctivite phlycténulaire et les adénopathies externes. Ces derniers, peuvent être cervicales, sous-maxillaires, axillaires ; sans traitement, elles évoluent vers la caséification, le ramollissement et la fistulisation [72].

Si ce premier contact infectant survient à un âge avancé ou sur un sujet fragilisé (sida), l'évolution peut se faire d'emblée vers une forme pneumonique excavée à dissémination bronchogénique [94].

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 [94]. Deux types de tests d'immunodiagnostic sont disponibles: le test cutané tuberculique, ou intradermoréaction (IDR) et les tests sériques de détection de l'IFN γ .

I.5.1.2. La tuberculose pulmonaire commune

Classiquement, les symptômes de la tuberculose s'installent progressivement et persistent plus de 3 semaines. Ces symptômes, associant des signes généraux et respiratoires, sont non spécifiques occasionnant un retard diagnostique et un risque de contamination de l'entourage.

Les signes généraux sont marqués par une fièvre généralement modérée et à prédominance nocturne. Elle peut prendre un aspect oscillant avec des frissons dans certaines formes sévères. Les sueurs nocturnes sont très fréquentes, surtout dans les formes évoluées de tuberculose. Une altération de l'état général est observée mais souvent négligée par les patients. L'amaigrissement peut, dans les formes graves, dépasser 10 kg. L'anorexie et les malaises, fréquents dans la tuberculose évoluée, peuvent être les seuls signes de la maladie [79].

La toux peut être absente au début de la maladie, puis devient de plus en plus fréquente et survient surtout le matin. Elle peut être non ou peu productive. Une toux fréquente et nocturne témoigne souvent d'une forme évoluée. Les sujets symptomatiques sont plus susceptibles d'avoir des bacilloscopies positives. Les douleurs thoraciques sont présentes en cas d'épanchements pleuraux. Les hémoptysies inquiètent le malade et orientent rapidement vers le diagnostic mais sont rarement massives. La dyspnée se voit dans les formes évoluées de la maladie ou en cas d'atteinte pleurale [79]

L'examen clinique est pauvre dans la tuberculose pulmonaire, contrastant avec l'importance des signes fonctionnels et radiologiques. Des signes cliniques extra-respiratoires peuvent s'y associer et dépendent de la localisation de la maladie.

La tuberculose pulmonaire peut être diagnostiquée dans un contexte aigu, à l'occasion d'une complication (hémoptysie, épanchement pleural, pneumothorax) ou d'une infection broncho-pulmonaire aiguë [79]

1.5.1.3. La miliaire tuberculeuse :

La tuberculose miliaire est la conséquence de la dissémination hémotogène du bacille tuberculeux. Le bacille atteint la circulation à partir d'une lésion tuberculeuse qui érode progressivement un vaisseau sanguin et s'y répand. Le terme de miliaire provient de la similarité des lésions (granulomes de 1 à 3 mm de diamètre) avec des grains de mil [72].

Le diagnostic de la miliaire tuberculeuse est avant tout clinique, car la radiographie pulmonaire peut être normale à un stade très précoce, l'IDR inconstamment positive, et la

confirmation bactériologique obtenue bien tardivement. Elle commence habituellement insidieusement par de l'anorexie, des malaises, de la fièvre, une perte de poids, symptômes qui s'aggravent progressivement et s'enrichissent de diverses manifestations liées à la dissémination du bacille tuberculeux, mais qui aboutissent à un tableau infectieux sévère avec insuffisance respiratoire se majorant progressivement. Toux, dyspnée, hémoptysie peuvent manquer ; céphalée et confusion liées à une méningite tuberculeuse sont rares, comme l'hépatomégalie, les adénomégalie et la splénomégalie. Des épanchements pleuraux et péricardiques, voire péritonéaux, peuvent être présents. Un signe spécifique mais rare de la miliaire tuberculeuse est le tubercule de Bouchut, tache jaunâtre à bords flous, peu saillante, pouvant devenir blanchâtre lorsque la maladie progresse, siégeant sur la rétine près d'un vaisseau ; cette atteinte rétinienne peut être rapprochée des lésions cutanées (papules, macules, taches purpuriques) qui sont des lésions de vascularite infectieuse [72].

I.5.2. La tuberculose extrapulmonaire

I.5.2.1. La tuberculose ganglionnaire

Les localisations ganglionnaires représentent entre 30 et 60 % de l'ensemble des TEP [95,96]. Les ganglions cervicaux sont, de loin, les plus fréquemment atteints [97,98].

À un stade précoce, les adénopathies tuberculeuses sont indolores, fermes et mobiles par rapport aux plans profond et superficiel. Au bout de quelques semaines, elles se ramollissent puis se fistulisent parfois à la peau, fistulisation qui cicatrice difficilement [99]. La tuberculose ganglionnaire chez les patients séropositifs pour le VIH est caractérisée par des formes plus disséminées avec atteintes ganglionnaires profondes, abdominales en particulier [99].

L'aspiration du ganglion à l'aiguille fine est peu rentable pour le diagnostic. La biopsie exérèse permet mieux d'isoler le BK et d'objectiver une histologie évocatrice [94].

I.5.2.2. La tuberculose pleurale

Les pleurésies tuberculeuses sont, avec les tuberculoses ganglionnaires, les formes les plus fréquentes de TEP. Elles peuvent apparaître dans les mois qui suivent une primo-

infection ou tardivement, lors d'une réactivation, et sont, dans ce cas, souvent satellites d'une atteinte pulmonaire [100]. La contamination de la plèvre est secondaire à la rupture dans la cavité pleurale d'un foyer caséux pulmonaire ou d'une adénopathie, ou encore à une dissémination hématogène.

Cliniquement, le début est habituellement aigu, avec fièvre, toux et douleurs latéro-thoraciques. Le liquide pleural est le plus souvent exsudatif et lymphocytaire. Le diagnostic de certitude repose sur l'identification de *M. tuberculosis* dans le liquide pleural ou sur un prélèvement biopsique. Les frottis de liquide pleural sont presque toujours négatifs dans les formes habituelles de tuberculose. Les cultures sur milieu de Löwenstein-Jensen sont plus sensibles que les frottis. La recherche de BK dans les crachats, fréquemment positive, ne doit pas être négligée, même en l'absence d'anomalies parenchymateuses détectables à la radiographie thoracique [101].

1.5.2.3. Tuberculose du système nerveux central

L'atteinte du système nerveux central est peu fréquente mais revêt une importance particulière en raison de sa gravité.

➤ **Méningite tuberculeuse**

La méningite tuberculeuse se développe à la suite de la rupture d'un granulome tuberculeux méningé d'origine hématogène dans l'espace sous-arachnoïdien. La réaction inflammatoire qui s'ensuit provoque la formation d'un exsudat épais, lequel entrave l'absorption et la circulation du liquide céphalo-rachidien (LCR), pouvant ainsi causer une hydrocéphalie.

Le tableau de méningite tuberculeuse s'installe insidieusement et associe un syndrome infectieux, un syndrome méningé, souvent incomplet, et des signes d'atteinte neurologique centrale très divers [99].

La ponction lombaire ramène un liquide eau de roche, à prédominance lymphocytaire, riche en protéides (0,8 à 4 g/L) et pauvre en glucose. Une prédominance de polynucléaires neutrophiles peut s'observer aux stades précoces et n'élimine pas le

diagnostic. La recherche de BK sur les frottis de liquide céphalorachidien permet parfois de confirmer rapidement le diagnostic mais est habituellement négative. Un examen prolongé et attentif des lames permet cependant d'améliorer la rentabilité des frottis [99].

➤ *Tuberculome intracrânien*

Les *tuberculomes* sont des masses sphériques *granulomateuses*, qui mesurent le plus souvent deux à huit centimètres, bien limitées et renfermant typiquement en leur centre du caséum. Ils peuvent être découverts fortuitement à l'occasion d'une imagerie cérébrale réalisée dans le cadre d'une miliaire tuberculeuse ou se manifester par une hypertension intracrânienne, des convulsions ou des signes neurologiques focaux [99].

La confirmation du diagnostic est difficile et repose essentiellement sur la recherche d'une localisation tuberculeuse associée, pulmonaire en particulier. Sinon, une biopsie cérébrale stéréotaxique, dont la rentabilité est excellente, est indiquée [99].

1.5.2.4. La tuberculose cutanée

Les manifestations cutanées de la tuberculose sont multiples. Certaines formes sont historiques, et presque jamais rencontrées dans les pays à faible prévalence de la maladie (gommès, miliaire, chancre tuberculeux, scrofuloderme). Dans ces pays, on rencontre surtout l'érythème noueux et l'érythème induré de Bazin, manifestations d'hypersensibilité dans le cadre de l'infection. La tuberculose verruqueuse et le lupus tuberculeux sont dus à une réinoculation ou à une dissémination hématogène à partir d'un foyer tuberculeux profond actif ou latent. La tuberculose verruqueuse consiste en une plaque hyperkératosique dure à centre croûteux s'affaissant progressivement, sur un site de réinoculation (souvent la main) (figure 43). Le lupus tuberculeux est un placard rouge violacé du visage ou du cou, à bords irréguliers polycycliques, dont le centre s'affaisse et devient cicatriciel [102] (figure 44).



Figure 43: Tuberculose verruqueuse du dos de la main. [102]



Figure 44: Lupus tuberculeux étendu [103]

1.5.2.5. tuberculose ostéo-articulaire

La tuberculose ostéo-articulaire résulte le plus souvent de la dissémination hématogène du BK atteignant initialement les zones osseuses sous-chondrales, puis s'étendant de proche en proche vers l'enveloppe synoviale, le cartilage et l'espace articulaire. Une extension vers les tissus mous adjacents avec formation d'abcès froids est couramment observée. Le rachis est la localisation ostéo-articulaire la plus fréquente, suivi par les ostéo-arthrites et les ostéomyélites [99].

➤ Tuberculose rachidienne

L'infection atteint initialement le corps vertébral par voie hématogène puis s'étend au disque vertébral et à la vertèbre adjacente. Elle atteint avec prédilection la région thoracique basse et lombaire haute [104]. Le tableau clinique est le plus souvent insidieux et non spécifique, et le diagnostic est posé tardivement dans la majorité des cas. La maladie est

habituellement révélée par des douleurs rachidiennes d'allure mécanique au début puis progressivement de type inflammatoire. Les signes généraux sont inconstants et modérés. Un déficit neurologique (syndrome de compression médullaire ou syndrome de la queue-de-cheval) est présent dans 25 à 75 % des cas [105]. Dans de rares cas, les bacilles peuvent être libérés dans l'espace sous-arachnoïdien, entraînant une méningite ou un abcès peut s'écouler à l'extérieur avec une formation de sinusite. [106].

➤ Ostéo-arthrite tuberculeuse

Les ostéo-arthrites tuberculeuses sont typiquement mono-articulaires, atteignant préférentiellement les grosses articulations portantes, hanche et genou le plus souvent [107]. Le tableau clinique est celui d'une arthrite subaiguë ou chronique s'aggravant progressivement. Des abcès froids, parfois fistulisés à la peau, sont observés dans un quart des cas [99].

1.5.2.6. Tuberculose uro-génitale

La tuberculose uro-génitale survient généralement à l'âge adulte, la maladie se déclarant habituellement 15 à 20 ans après la primo-infection. [108].Après ensemencement par voie hématogène, le plus souvent à partir d'un foyer pulmonaire, le BK se fixe au niveau des deux reins, préférentiellement à la jonction cortico-médullaire et dans les capillaires péri-glomérulaires [109].L'infection se développe habituellement au niveau d'un seul rein et se propage par voie canalaire pour atteindre le bassinet, l'uretère, la vessie et l'urètre. Chez l'homme, les organes urinaires et génitaux sont souvent atteints simultanément, [108]. Chez la femme, l'atteinte génitale est le plus souvent isolée, le BK atteignant initialement les trompes par voie hématogène puis diffusant vers les ovaires et l'endomètre.

La tuberculose urinaire se révèle le plus souvent par des signes non spécifiques tels que dysurie, pollakiurie, infections urinaires récidivantes et altération fébrile de l'état général [110]. Elle reste souvent longtemps asymptomatique, les lésions n'étant découvertes qu'à un stade avancé. L'atteinte génitale se manifeste habituellement chez l'homme par une orchi-

épididymite chronique et chez la femme par une salpingite chronique ou une endométrite [111]. La tuberculose génitale est souvent découverte à l'occasion du bilan d'une infertilité, laquelle représente sa principale complication.

L'analyse des urines révèle une pyurie aseptique avec ou sans hématurie. L'isolement du BK dans les urines, prélevées plusieurs jours de suite, permet fréquemment de poser le diagnostic [110]. L'apport de la PCR est particulièrement précieux dans le diagnostic des tuberculoses génitales de la femme où les moyens diagnostiques classiques, laparoscopie et hystérosalpingographie, ont une valeur limitée [112].

1.5.2.7. Tuberculose abdominale

La tuberculose abdominale concerne surtout le péritoine et l'intestin. Les atteintes des viscères pleins, foie, rate, pancréas et surrénales, s'observent plutôt au cours des miliaires tuberculeuses. La contamination de l'abdomen peut se faire par la déglutition d'expectorations contenant du BK, une dissémination hématogène, ou l'ingestion de produits laitiers souillés. Enfin, une contamination du péritoine par contiguïté à partir des ganglions ou des organes génitaux est possible [113]. On retrouve une atteinte pulmonaire associée dans environ la moitié des cas [114,115].

➤ *Tuberculose péritonéale*

La présentation clinique typique est celle d'une ascite fébrile avec altération de l'état général évoluant de façon insidieuse. La ponction d'ascite ramène un liquide exsudatif et lymphocytaire avec un taux d'ADA élevé. Les recherches de BK à l'examen direct sont habituellement négatives, mais les cultures sont positives dans environ un tiers des cas. La PCR a une bonne valeur quand elle est positive, mais sa sensibilité est insuffisante [116] et un test négatif a donc peu de valeur. La laparoscopie, avec une sensibilité de 93 % et une spécificité de 98 %, reste l'examen-clé pour le diagnostic de la tuberculose péritonéale. L'analyse histologique et microbiologique complète les données de l'inspection laparoscopique [99].



La tuberculose peut intéresser toutes les portions du tube digestif, mais elle siège préférentiellement au niveau de la région iléo-cæcale, probablement en raison de la richesse en tissu lymphatique, de la stase physiologique et de la réduction de l'activité digestive qui caractérisent cette région. Les signes cliniques, douleurs abdominales, anorexie, vomissements, ne sont pas spécifiques et ce sont les explorations radiologiques qui orientent vers le diagnostic de tuberculose intestinale. Celui-ci est habituellement confirmé par la colonoscopie, qui permet une inspection des lésions à la recherche d'anomalies caractéristiques et des prélèvements pour analyse histologique et microbiologique [99].

1.5.2.8. Tuberculose de l'immunodéprimé

➤ *Malades non infectés par le VIH*

La symptomatologie de tuberculose de l'immunodéprimé dépend de l'importance et de la nature de l'immunodépression. La fièvre est fréquente, mais peut être masquée par la corticothérapie. Si l'immunodépression est sévère, les lésions granulomateuse et nécrotiques ne se forment pas, et ne sont donc pas retrouvées par l'étude anatomopathologique [72].

➤ *Malades infectés par le VIH*

La tuberculose chez le sujet VIH positif a des aspects différents selon le stade de l'infection, selon la sévérité de l'immunodéficience.

Aussi longtemps que les lymphocytes CD4 sanguins restent en nombre suffisant (supérieurs à 200/mm³), l'expression clinique et radiologique de la tuberculose reste comparable à celle qui est observée chez les sujets VIH négatifs ; mais l'immunodéficience cellulaire, même discrète, favorise chez les sujets infectés par le bacille tuberculeux la survenue d'une maladie tuberculeuse. Les malades doublement infectés ont volontiers une atteinte de plusieurs organes, des lésions miliaires et /ou des adénopathies médiastinales et une fréquence élevée de mycobactériémies. Quand les lymphocytes CD4 diminuent, la probabilité de localisation extrapulmonaire et de dissémination augmente [72]

~~Tuberculose de l'immunité~~ Tuberculose de l'immunité L'expression sévère due au VIH, la tuberculose a des particularités. Les symptômes généraux en règle sévères (asthénie, amaigrissement, fièvre) et /ou les signes respiratoires sont présents dans la quasi-totalité des cas [72].

I.6. Diagnostic

I.6.1. Diagnostic radiologique

I.6.1.1. Tuberculose pulmonaire

➤ *La tuberculose primaire*

La tuberculose primaire se manifeste radiologiquement par une atteinte parenchymateuse, ganglionnaire, pleurale, plus rarement une atteinte miliaire hémotogène diffuse ou toute combinaison de celles-ci [117].

La radiographie thoracique continue d'être le pilier du diagnostic. Typiquement, la maladie parenchymateuse se manifeste comme consolidation dans n'importe quel lobe, avec prédominance dans les lobes inférieurs et moyens (figure 45). Dans ces cas, les infections bactériennes sont beaucoup plus susceptibles d'être la cause de telles caractéristiques radiologiques et par conséquent les résultats sont non spécifiques, bien que l'infection primaire devrait être suspectée chez les individus à risque d'exposition à la tuberculose [117,118].



Figure 45: Radiographie du thorax de face : opacité alvéolaire systématisée du lobe moyen : forme pneumonique d'une tuberculose primaire [119]

Dans environ deux tiers des cas, les lésions parenchymateuses se résorbent sans laisser de séquelles mais cette résolution peut prendre jusqu'à 2 ans. Dans un tiers des cas, la seule preuve radiologique suggérant une tuberculose antérieure est le complexe dit de Ranke: la combinaison d'une cicatrice parenchymateuse, calcifiée ou non (lésion de Ghon), et des ganglions lymphatiques hilaires et / ou para-trachéaux calcifiés. La destruction et la fibrose du parenchyme pulmonaire entraînent la formation de bronchiectasies de traction dans la région fibrotique [118,119].

L'atteinte des ganglions lymphatiques est le plus souvent unilatérale, elle est bilatérale dans près d'un tiers des cas. Les chaînes hilaires et para-trachéales sont les plus affectées. (figure46). La TDM est plus sensible pour détecter cette atteinte ganglionnaire. Les adénomégalies de plus de 20 mm de diamètre présentent une hypodensité centrale correspondant à la nécrose caséuse et une prise de contraste périphérique en anneau après injection de produit de contraste, correspondant au tissu inflammatoire granulomateux [119].



Figure 46: Radiographie du thorax de face : élargissement du médiastin supérieur antérieur et moyen avec compression de la face latérale droite de la trachée : tuberculose ganglionnaire [119]

La miliaire est très rare lors de la primo-infection, elle se voit également au cours de la tuberculose post-primaire [119]. L'aspect radiologique est caractéristique en montrant dans 85 % des cas des micronodules de 1 à 3 mm de diamètre de contours nets et de distribution diffuse avec une apparente prédominance au niveau des bases (figure 47a) lié à l'effet de sommation.

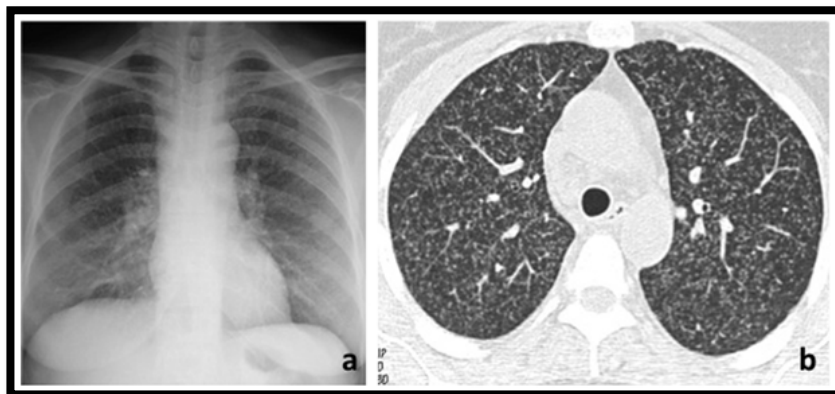


Figure 47: a : radiographie du thorax de face : syndrome interstitiel micronodulaire bilatéral diffus aux deux champs pulmonaires ; b : coupe TDM axiale: micronodules bilatéraux diffus de distribution hématogène : miliaire tuberculeuse [119]

La TDM est plus sensible pour la détection des micronodules et la détermination de leur répartition diffuse aléatoire au niveau des deux champs pulmonaires (figure 47b)

[120,121]. La TDM permet également de rechercher d'autres localisations asymptomatiques telles que les localisations cérébrales.

➤ La tuberculose post-primaire :

La tuberculose post-primaire est considérée comme une réactivation d'une lésion tuberculeuse antérieure. La sémiologie de base est très polymorphe comportant des images nodulaires, des images cavitaires, des opacités alvéolaires systématisées ou non. L'excavation est caractéristique de cette forme de tuberculose. L'atteinte ganglionnaire est moins fréquente que dans la forme primaire décrite dans 5 à 10 % des cas [119,120].

➤ Les micronodules et les nodules

En radiographie standard ces opacités nodulaires sont présentes dans 90 % des cas, siégeant aux sommets, dans les segments postérieurs des lobes supérieurs ou dans les segments apicaux des lobes inférieurs. Elles sont à limites floues de type alvéolaire, le plus souvent multiples, mesurant 5 à 15 mm de diamètre et d'évolution lente (figure 48).

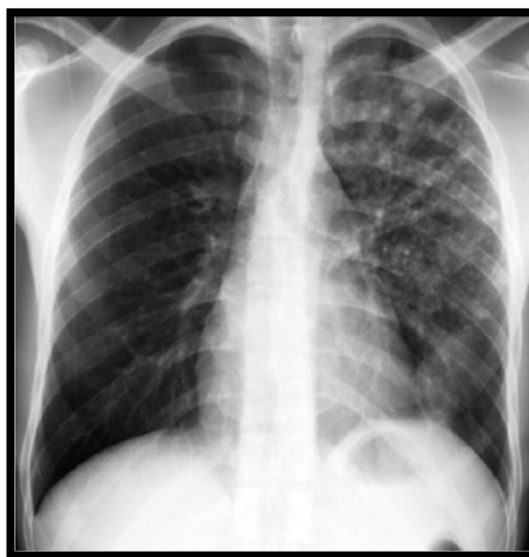


Figure 48: Radiographie du thorax de face : nodules et nodules excavés multiples diffus au champ pulmonaire gauche [119]

En TDM, les micronodules centrolobulaires sont caractérisés par des limites floues, une densité variable, une taille inférieure à 5 mm et une topographie centrolobulaire siégeant à 2 ou 3 mm de la plèvre, avec intégrité des interfaces pleuro-pulmonaires.

➤ Images cavitaires

La formation de cavitation est le signe caractéristique d'une tuberculose pulmonaire post-primaire ; c'est un marqueur d'activité. La présence de lésions cavitaires est un facteur significativement associé à la positivité de la recherche de BK dans les expectorations du fait de la plus grande richesse bacillaire des cavernes [119].

Les cavités sont des images aériques, rarement hydro-aériques, de contours souvent anfractueux, à limites nettes et à parois épaisses. Elles sont identifiées sur la radiographie du thorax qui peut visualiser la bronche de drainage (Fig. 7). La mise en évidence en TDM de micronodules bronchiolaires branchés autour de cette image cavitaire dans un territoire particulier (segments apicaux et dorsaux des lobes supérieurs et apicaux des lobes inférieurs) permet d'évoquer le diagnostic de tuberculose (figure 49).

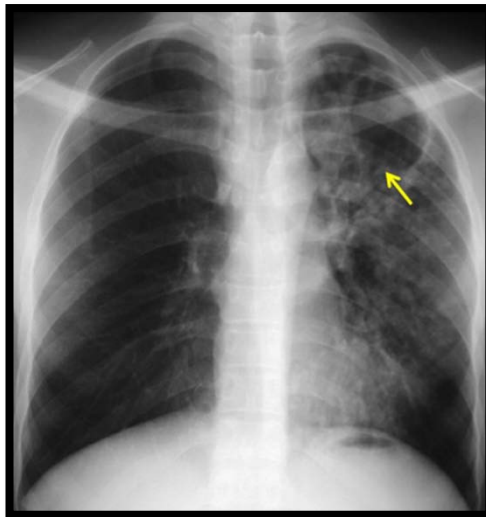


Figure 49: Radiographie du thorax de face : cavité aérique apicale gauche avec visualisation de la bronche de drainage (flèche) entourée de micronodules et nodules [119]

➤ tuberculose multirésistante

La tuberculose multirésistante se caractérise par des cavités, des bronchectasies, une destruction du parenchyme et des granulomes calcifiés plus fréquents que dans la tuberculose sensible. Ces anomalies sont également plus fréquentes en cas de résistance acquise qu'en cas de résistance primaire [120]. L'aspect d'arbre en bourgeons et les condensations sont plus fréquents en cas de tuberculose ultra-résistante [122].

1.6.1.2. Tuberculose extrapulmonaire

➤ Tuberculose pleurale

L'épanchement pleural est généralement unilatéral et modéré, et peut facilement être détecté par une radiographie thoracique (Figure 50). Dans un tiers des cas, un infiltrat pulmonaire sous-jacent peut être observé [123].

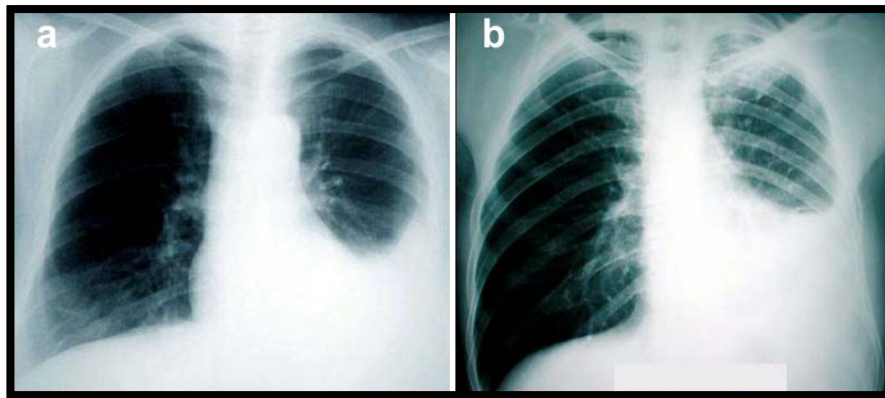


Figure 50: Epanchement pleurales sans lésion parenchymateuse (a) et infiltration pulmonaire du lobe supérieur (b) [123]

➤ La tuberculose rachidienne

L'imagerie permet d'évoquer le diagnostic. Les radiographies standard révèlent fréquemment un pincement discal avec une destruction du corps vertébral, mais peuvent être normales à un stade précoce. La TDM permet de détecter les lésions à un stade plus précoce et d'analyser l'extension intracanaulaire et paravertébrale de l'infection. L'imagerie par résonance magnétique (IRM), supérieure à la TDM, est aujourd'hui l'examen de référence tant pour le diagnostic que pour le suivi des tuberculoses vertébrales (figure 51). Les anomalies observées à l'imagerie ne sont pas entièrement spécifiques et une biopsie vertébrale sous contrôle tomodensitométrique, ou éventuellement une ponction à l'aiguille fine d'un abcès froid, sont nécessaires pour confirmer le diagnostic [99].



Figure 51: Image par résonance magnétique (IRM) d'une femme de 35 ans souffrant de tuberculose spinale, montrant la destruction des corps vertébraux thoraciques (T8 et T9) et la compression de la moelle épinière [124]

➤ *Ostéo artrite tuberculeuse*

La tuberculose articulaire se manifeste typiquement en radiographie standard par une déminéralisation péri-articulaire, des érosions osseuses périphériques et un pincement de l'interligne articulaire. La tomodensitométrie ou mieux l'IRM articulaire permettent de réaliser un bilan lésionnel précis et de suivre l'évolution sous traitement [99].

➤ *Tuberculose du système nerveux central*

• *La méningite tuberculeuse*

L'IRM joue un rôle de premier plan dans le diagnostic et la surveillance des méningites tuberculeuses. Elle peut révéler une arachnoïdite basale avec hyperdensité spontanée et rehaussement après injection de produit de contraste, une hydrocéphalie, des infarctus ou un tuberculome associé [99] (figure 52).

Bien qu'il s'agisse d'un signe sensible et très classique, l'appréciation d'un rehaussement basal est assez fortement observateur-dépendante [125] et son absence n'élimine donc pas le diagnostic.

- *Tuberculomes intracrâniens*

Le tuberculome apparaît en TDM sous la forme d'une lésion arrondie, discrètement hypodense par rapport au parenchyme cérébral, prenant fortement le produit de contraste en périphérie, donnant ainsi un aspect en couronne très évocateur du diagnostic [99] (figure 52).

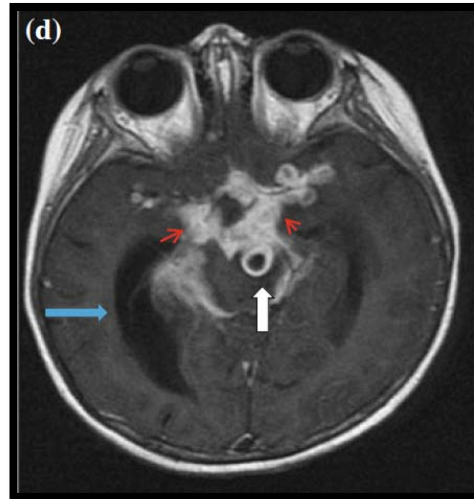


Figure 52: IRM montrant un tuberculome (grande flèche blanche), rehaussement méningée basale (petites flèches rouges) et hydrocéphalie (flèche bleue) chez un enfant de 2 ans atteint de méningite tuberculeuse [124]

➤ *Tuberculose abdominale*

Malgré une certaine difficulté à différencier les différentes présentations de la tuberculose abdominale, en plus d'une superposition considérable des modèles de présentation, la tuberculose péritonéale est classiquement classée en trois types selon ses aspects macroscopiques, à savoir: les types sec, humide et fibreux. Le type humide présente principalement soit comme une ascite libre ou loculée, associée ou non à un épaissement péritonéal diffus et lisse; Dans le type sec, il existe une prédominance de l'épaississement péritonéal et mésentérique avec des nodules caséux, l'élargissement des ganglions lymphatiques et des adhérences fibreuses; À son tour, le type fibreux est caractérisé par un épaissement omental remarquable et l'enchevêtrement des boucles intestinales ressemblant cliniquement à une masse, parfois avec une ascite loculée et qui peut être similaire à la carcinose péritonéale [126].

L'échographie abdominale a une bonne valeur d'orientation quand elle montre l'association d'une ascite cloisonnée et d'un épaissement péritonéal. [99].

I.6.2. Diagnostic biologique non spécifique

I.6.2.1. Examens biochimiques

La numération formule sanguine (NFS) et les analyses biochimiques de routine sont souvent normales au cours de la tuberculose pulmonaire. La protéine C-réactive (CRP) est élevée chez 85 % des patients [127]. 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 [128]. Une hypoalbuminémie avec hypergammaglobulinémie 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 [129].

I.6.2.2. Examen anatomopathologique

Sur un plan histologique, le processus inflammatoire provoque certaines lésions élémentaires qui font évoquer le diagnostic de tuberculose, quel que soit l'organe examiné : lésions caséofolliculaires. Ces caractéristiques associent l'apparition de granulomes épithélioïdes et géantocellulaires, et la survenue fréquente d'une nécrose tissulaire particulière typique, la nécrose caséuse (aspect macroscopique de lait caillé, aspect microscopique de nécrose acidophile) [94 ;130].

I.6.3. Diagnostic biologique spécifique

I.6.2.3. Prélèvements

Le matériel soumis à la culture mycobactérienne comprend une grande variété de fluides corporels, ainsi que des échantillons de tissus.

➤ *Formes pulmonaires*

Dans les formes pulmonaires, on privilégie les produits de l'expectoration spontanée. Les prélèvements d'aspect salivaire ne conviennent pas. 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.

L'examen mycobactériologique des crachats n'est faisable que chez le grand enfant qui sait cracher. Il n'est rentable qu'en cas d'encombrement patent, habituellement dans les formes caverneuses observées chez l'adolescent, mais peut être sensibilisé par l'administration préalable d'un aérosol de sérum salé hypertonique (crachats « induits »). L'enfant déglutit ses sécrétions pendant le sommeil et concentre le BK dans son estomac. La méthode de référence chez l'enfant reste donc l'aspiration gastrique ou « tubage ». Ce dernier est réalisé le matin au réveil, à jeun, avant le lever du patient, il est répété 3 jours consécutifs, habituellement en hospitalisation, comme il peut être effectué à domicile [131]. Ces échantillons doivent être traités dans les 4 h de la collecte, car l'acidité gastrique est potentiellement nocive pour les mycobactéries. Si un traitement rapide n'est pas possible, les échantillons gastriques doivent être neutralisés avec du carbonate de sodium ou un autre sel tampon à un pH de 7,0 [132].

En 2007, l'OMS recommandait 2 prélèvements 2 jours successifs (spot morning) au lieu de 3 et depuis 2009, 2 prélèvements successifs le même jour (spot-spot) [133].

S'il est difficile d'obtenir une expectoration ou si la recherche de BAAR dans l'expectoration est négative, malgré un contexte clinique évocateur, l'aspiration des sécrétions bronchiques au cours d'une fibroscopie bronchique et, éventuellement, la biopsie d'une lésion endobronchique peuvent être proposés. En l'absence de sécrétions, on procède à un lavage broncho-alvéolaire 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 [134].

➤ Formes extrapulmonaires

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

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

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

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

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

- 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 [134].
- 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 [134].

➤ Recommandations générales

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 [134].

1.6.3.1. Diagnostic directe

Le diagnostic de certitude de la tuberculose repose sur la mise en évidence de *Mycobacterium tuberculosis* dans les prélèvements pathologiques.

➤ Examen microscopique direct:

Depuis plus de 125 ans, l'examen microscopique direct demeure un outil très simple et rapide renseignant sur la présence de BAAR dans les échantillons biologiques [135]. Cette étape clé repose le plus souvent sur une coloration fluorescente à l'auramine, qui est nettement plus sensible que la coloration de Ziehl-Neelsen (Figure 53), surtout dans les formes pauci-bacillaires (< 10 bacilles pour 100 champs) avec un gain de 10%. Elle permet une lecture plus rapide et une économie de temps non négligeable dans les laboratoires à grand débit. Classiquement, le délai de rendu du résultat de positivité pour l'examen direct est compris entre 4 heures et 1 jour. Le coût élevé des microscopes à fluorescence utilisant des lampes à vapeur de mercure a limité dans le passé la généralisation de cette technique et son utilisation dans les régions où la tuberculose est endémique [136].

L'avènement de nouvelles technologies dans ce domaine a permis de contourner ce problème. Le remplacement des lampes à mercure par le système Light Emitting Diode(LED) a facilité le développement et la généralisation de la microscopie à fluorescence. Par rapport aux microscopes à fluorescence conventionnels, les microscopes LED sont moins coûteux,

nécessitent moins d'énergie et sont capables de fonctionner sur piles. De plus, la lecture microscopique ne nécessite pas le recours à l'obscurité (chambre noire) [137,138].

Selon les données de L'OMS, la microscopie LED (M-LED) a montré une sensibilité et une spécificité respectivement de 84 % et 97 % quand la culture est prise comme référence [138,139].

Les BAAR apparaissent sous forme de bacilles verts fluorescents sur fond rouge pour les frottis colorés à l'auramine (Figure 54) et roses sur fond bleu après coloration de Ziehl-Neelsen.(Figure 55).

L'examen direct présente plusieurs limites : sa sensibilité moyenne de 50 %, l'absence de distinction entre les mycobactéries du complexe *tuberculosis* et les mycobactéries non tuberculeuses et l'absence de discrimination entre BAAR vivants et morts, l'examen direct positif n'est pas un bon marqueur d'efficacité thérapeutique, d'échec thérapeutique ou de rechute tuberculeuse. [140-142]

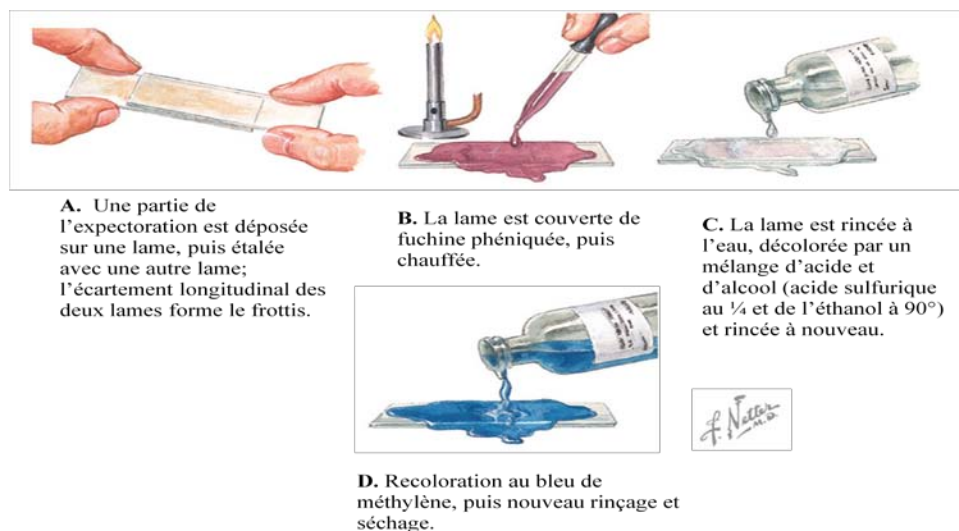


Figure 53: méthode de coloration Ziehl-Nielsen [60]

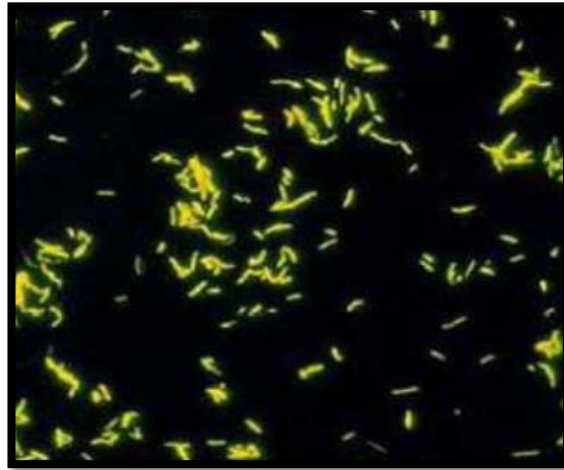


Figure 54: *M. tuberculosis* coloré à l'auramine , qui fait fluorescer les bacilles acido-résistants [60]

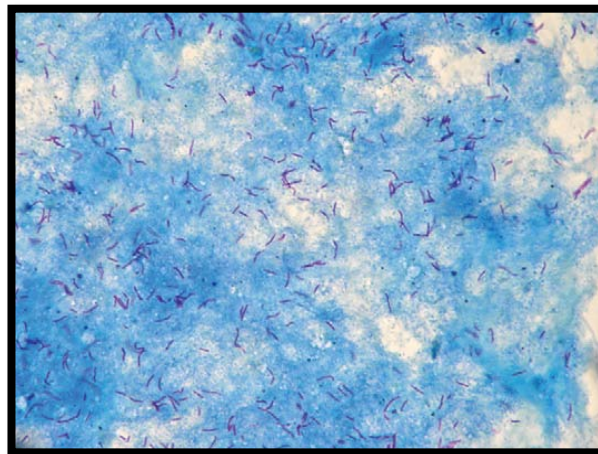


Figure 55: Coloration de Ziehl-Neelsen sur examen direct. Présence de nombreux bacilles acido-alcolo-résistants colorés en rose par la fuchsine de Ziehl sur le sputum d'un patient avec cavernes. Microscopie optique à fond clair, grossissement $\times 1\ 000$.

(Coll. F. Schramm, Institut de bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg.)[131]

➤ Culture :

La culture reste la méthode de référence dans le diagnostic de la tuberculose, associée à une étape préalable de décontamination-fluidification pour les prélèvements provenant de cavités ouvertes, les prélèvements considérés comme stériles tels que le LCR, le sang et les lésions fermées (ponctions ou biopsies) sont directement mis en culture sans décontamination préalable. Sa spécificité est absolue et sa sensibilité est meilleure que celle

de la microscopie directe. Elle permet de confirmer les cas, d'obtenir la souche et de l'identifier, de porter le diagnostic des tuberculoses à microscopie négative et de déterminer la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées. Elle renseigne également sur la viabilité du germe [134 ; 139 ;143].

Les milieux de culture mycobactériens classiques comprennent des milieux à base d'œuf, à base d'agar, liquides et sélectifs. Parmi les milieux à base d'œufs on a les milieux de Lowenstein-Jensen (L-J) et Petraghani. Ce dernier est le plus inhibiteur des bactéries contaminantes en raison de la teneur élevée en vert de malachite. Tous sont des milieux complexes et comprennent les œufs entiers, la farine de pomme de terre, les sels, le glycérol et le vert de malachite.

Le milieu L-J pendant de nombreuses années était le milieu à base d'œuf le plus courant utilisé pour la culture primaire. Cependant, un taux de récupération plus faible (40%) a été décrit pour le milieu L-J que pour le milieu à base d'agar 7H11 (81%).

Middlebrook 7H10 et 7H11 sont des milieux à base de gélose bien définis contenant de l'agar, des composés organiques, des sels, du glycérol et de l'albumine. 7H11 contient également 0,1% d'hydrolysate de caséine, qui est incorporé pour améliorer le taux de récupération et améliorer la croissance de mycobactéries qui présentent une résistance à l'isoniazide. Les milieux sélectifs sont fabriqués avec le milieu de base plus l'addition d'agents antimicrobiens, qui sont inclus pour inhiber les bactéries contaminantes qui ont survécu à la procédure de décontamination ; dont le milieu L-J Gruft, qui contient de la pénicilline, de l'acide nalidixique et du vert de malachite, ainsi que le milieu sélectif 7H11 (S7H11) de Middlebrook, qui contient de la carbénicilline, de la polymyxine B, du lactate de triméthoprim, de l'amphotéricine B et du vert de malachite [132].

On inocule 0,25 ml du sédiment provenant de l'échantillon décontaminé sur la surface du milieu solide, si on utilise un milieu de culture tubé; on inocule 0,5 ml sur le milieu contenu dans les plaques de culture. Les bouchons sur les tubes doivent être laissés légèrement lâches pour fournir une aération adéquate de la culture.

En raison de la croissance lente des mycobactéries, le résultat des cultures n'est obtenu qu'après plusieurs semaines cela dépend de la charge bactérienne et du milieu utilisé, respectivement compris entre 2 et 6 semaines pour le milieu solide, et 1 et 4 semaines pour le milieu liquide [139;143].

Ce sont les systèmes de cultures liquides automatisés introduits depuis une dizaine d'années, qui sont actuellement les plus performants. Ces cultures liquides réduisent considérablement le temps de détection par rapport aux cultures sur milieu solide en moyenne à 10 jours quand la microscopie est positive et à 14 jours quand elle est négative [144,145].

Parmi ces systèmes, on peut citer le BACT/Alert 3D automatisé, la méthode Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT) et Méthode Versa TREK (TREK diagnostic system).

La méthode Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT) : Le MGIT est basé sur la présence dans le tube d'un sel de ruthénium qui émet une fluorescence visible en lumière violette lorsque la pression partielle en oxygène diminue dans le tube, signant la croissance des micro-organismes [145] (figure 56).

L'automate de culture MGIT (Bactec MGIT 960) effectue une mesure automatisée de la croissance bactérienne, éliminant toute subjectivité de lecture. Le système Bactec 960 a remplacé le système Bactec 460 avec les mêmes performances tout en évitant l'utilisation de produits radioactifs [146,147].

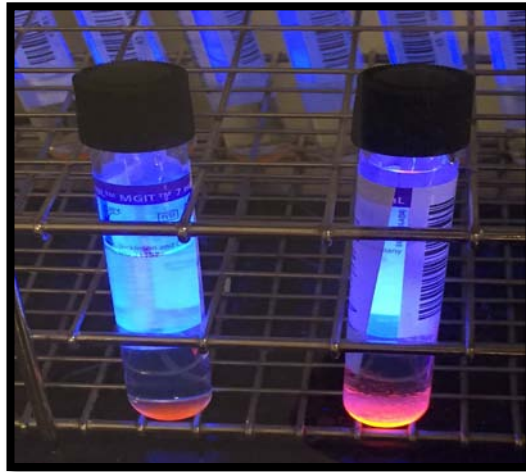


Figure 56: Le tube MGIT 960 à droite contient des mycobactéries en croissance et est fluorescent lorsqu'il est exposé à la lumière UV. En revanche, le tube de gauche ne contient pas de mycobactéries [132]

Méthode BacT/Alert : Il s'agit d'une technique automatisée dont le principe repose sur l'acidification du milieu provoquée par le métabolisme bactérien, qui entraîne un virage de l'indicateur coloré contenu dans une pastille au fond du flacon [139].

Méthode Versa TREK (TREK diagnostic system) : Cette méthode automatisée détecte la croissance bactérienne grâce à des capteurs de pression [148].

Ces systèmes en milieu liquide ont une sensibilité d'environ 10 % supérieure aux milieux solides. Cependant, la meilleure performance de la culture réside dans la combinaison des milieux solides et liquides, car certaines souches ne poussent qu'en milieu liquide et d'autres en milieu solide [144 ; 149]. Un autre atout des cultures en milieu liquide est de permettre de tester plus rapidement la sensibilité aux antituberculeux de première ligne, à savoir la rifampicine, l'isoniazide, l'éthambutol, la streptomycine et le pyrazinamide [146]. Et plus récemment à certains antituberculeux de seconde ligne [150].

➤ Identification phénotypiques et biochimiques

Les souches de *M. tuberculosis* sont classiquement identifiées par la morphologie des colonies sur milieu solide (aspect rugueux, en chou-fleur, blanc crème) (Figure 57) et des tests biochimiques (accumulation de niacine, catalase thermolabile, présence de nitrate réductase...) [134].

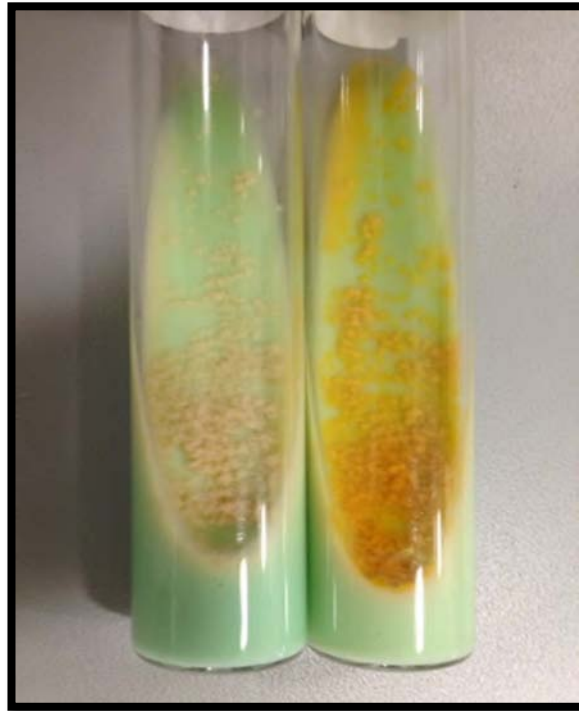


Figure 57: Les colonies de deux espèces différentes de *Mycobacterium* sont mises en évidence sur des arêtes de gélose Lowenstein-Jensen. L'isolat de *M. tuberculosis* sur la gauche est «rugueux et chamois», avec des colonies qui ont un aspect de chou-fleur. L'isolat à droite, à t

- *Tests biochimiques*

Niacine test : La niacine fait partie du métabolisme énergétique des mycobactéries dans les réactions redox. Toutes les mycobactéries produisent de la niacine, mais *M. tuberculosis* l'accumule en raison de l'activité majeure de Nicotinamide Adénine Dinucléotide et de l'incapacité de traiter la Niacine résultante [31 ; 151]. L'essai démontre la présence de chlorure de cyanogène formé par réaction de la chloramine T et du thiocyanate de potassium en présence d'acide citrique. Le chlorure de cyanogène rompt le cycle pyridine de la niacine, formant l'aldéhyde gammacarboxyglutamate qui se lie à l'amine aromatique produisant une couleur jaune (figure 58) [80].

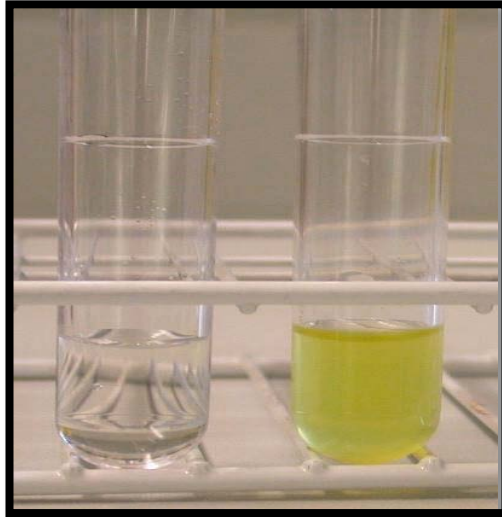


Figure 58: Niacin test (Courtesy of A. Martin) [80]

Catalase test : Il s'agit d'une enzyme antioxydante responsable de l'élimination des molécules de peroxyde d'hydrogène des cellules qui sont produites pendant la respiration [31]. Deux classes de catalase, thermolabile et thermostable apparaissent dans les mycobactéries. Chez *M. tuberculosis* et *M. bovis*, l'activité enzymatique est inhibée à 68 ° C; Ceci contraste avec les espèces restantes de mycobactéries qui maintiennent l'activité enzymatique après l'augmentation de la température [152]. Au cours du test, l'oxygène apparaît sous forme de bulles, provoqué par l'activité de l'enzyme dans une solution de perhydrol 30% et de Tween 80 à 10%. La hauteur de la colonne de bulles peut être mesurée, quantifiant ainsi l'activité enzymatique [80 ;153].

Nitrate réductase test (NRA) : *M. tuberculosis* possède une NRA qui réduit les nitrates en nitrites. Cette propriété est mise à profit afin de détecter rapidement sa croissance en milieu solide ou liquide par une réaction colorimétrique, avant la visualisation macroscopique des colonies [139]. Le test détecte la présence de nitrate réductase dans un milieu contenant du nitrate de sodium. L'enzyme réduit le nitrate en nitrite qui apparaît par l'addition de sulfanilamide et de dichlorhydrate -N- naphtyl éthylènediamine, formant un complexe de chlorure de diazonium de couleur fuchsia [153].

C'est une méthode simple et rapide, ne nécessitant pas d'équipement particulier et qui peut être réalisée sur les cultures ou directement sur les échantillons cliniques à microscopie positive ; les résultats sont obtenus en 10 à 14 jours [154,155].

➤ Identification antigénique

D'autres méthodes commencent à apparaître pour le diagnostic de la TB. Ces techniques profitent à la fois des progrès dans la connaissance de la biologie de MTB et de la découverte de nouvelles protéines cellulaires ou excrétées.

Deux marqueurs biologiques ont démontré leur utilité pour le diagnostic immunochromatographique de la tuberculose [145] :

Le premier test d'identification après culture repose sur la détection de l'antigène MPT64. Cette détection sur kit unitaire est réalisée en 15 minutes à partir de culture en milieu solide ou liquide. La sensibilité et la spécificité sont de l'ordre de 99 %. Ce test permet d'identifier le complexe *tuberculosis*, hors BCG, dès la positivité de la culture [156].

Le deuxième test est réalisé directement sur les urines du patient suspect de tuberculose et repose sur la détection de lipoarabinomannane (LAM). Ce test peu coûteux, rapide et facile est utilisé dans les pays en voie de développement à forte incidence de coinfection tuberculose-VIH où il présente une valeur prédictive positive (VPP) de 80 % [52].

➤ Diagnostic moléculaire génotypique

Les avancées technologiques dans la mise en évidence de la tuberculose reposent en grande partie sur la biologie moléculaire.

La Techniques de PCR: est la première technique d'amplification employée, Elle a été conçue en 1983 par K. Mullis [157]. En 1989, cette technique fut décrétée "développement scientifique majeur" de l'année [158]. Elle consiste en une réaction simple de polymérisation en chaîne 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 [159].

Aujourd'hui, l'automatisation a pris le pas sur ces techniques, avec la PCR en temps réel. Grâce à un indicateur de la production des amplicons qui émet une fluorescence, on peut suivre la réaction d'amplification et obtenir encore plus rapidement les résultats.

Le test d'amplification génique par Amplicore® : permet la mise en évidence des espèces du complexe *M. tuberculosis* et d'une espèce atypique plus rare *M.avium-intracellulaire*. Son principe est basé sur l'amplification d'une partie spécifique de l'ADN codant pour la sous unité 16S de l'ARN ribosomal [145].

Le test AMTD® : repose sur l'amplification, par une Reverse Transcriptase d'un site spécifique de l'ARN ribosomal [159].

Le test LAMP : est une technique d'amplification manuelle directe (sur les prélèvements) qui utilise 6 paires d'amorce générant une grande quantité d'ADN, l'essai cible le gène *gyrB* et la séquence d'insertion IS6110 [160]. Ce test offre l'avantage d'une lecture visuelle d'une fluorescence ou d'une turbidité sans avoir besoin d'un gel d'électrophorèse ou d'un autre instrument de détection. Ainsi, le travail s'effectue dans un seul tube fermé évitant la contamination de l'environnement de travail. Cette méthode a une sensibilité de 97,7 % pour les échantillons à microscopie positive mais seulement de 48,8 % pour les microscopies négatives ; sa spécificité est de 99 % [139]. Le kit de détection MTBC LoopAMP a été lancé au Japon et a été évalué par un groupe d'experts de l'OMS en 2013, mais n'a pas été approuvé en raison de preuves insuffisantes [161]. Actuellement, une évaluation plus large est en cours dans 14 pays [162].

Test d'hybridation inverse sur bandelettes: En 2008, les LPA sont devenus la première méthode moléculaire approuvée par l'OMS pour la détection de *M. tuberculosis* et la pharmacorésistance des patients à frottis positif à risque de MDRTB [163]. Des oligonucleotides spécifiques sont immobilisés à des endroits connus sur une bande de membrane et sont hybridés dans des conditions strictement contrôlées avec le produit de PCR marqué à la biotine. Les hybrides formés sont détectés colorimétriquement. L'identification par amplification et hybridation se fait en quelques heures à partir de culture [162].

Le complexe *tuberculosis* peut être mis en évidence par le kit GenoType® *Mycobacterium CM/AS* dont la technologie cible l'ADNr 23S. L'identification d'espèce au sein du complexe *tuberculosis* par le test GenoType® MTBC est fondée sur l'analyse du polymorphisme du gène *gyrB* [55]. Le test INNO-LIPA MYCOBACTERIA permet la détection des bactéries du genre *Mycobacterium* et l'identification de 16 espèces mycobactériennes différentes. L'amplification génique concerne la région codant l'espace 16S-23S de l'ARNr.

Xpert MTB/RIF: Il s'agit d'une PCR en temps réel automatisée semi-quantitatif permettant d'établir à la fois la présence de *M. tuberculosis* et des mutations les plus fréquentes du gène *rpoB* indiquant une résistance à la rifampicine en moins de 2 heures [139].

Ce test permet de réaliser, à la demande et dans une seule cartouche, les différentes étapes d'extraction, purification, amplification d'ADN, hybridation des sondes et détection multiplex. L'amplification génique cible la région de 81 pb du gène *rpoB*, qui code la sous-unité β de l'ARN polymérase et qui héberge les principales mutations responsables de la résistance à la rifampicine [55].

L'utilisation du système Xpert MTB/RIF s'applique à des échantillons d'expectorations (y compris les pellets provenant de prélèvements décontaminés). Hiroyuki et al. a évalué l'efficacité du test Xpert MTB / RIF pour la détection de MTB dans des échantillons de matières fécales obtenus à partir de patients tuberculeux pulmonaires adultes, confirmés par culture. La sensibilité du test fécal était de 100% (81,7% -100%) pour la détection de MTB dans des échantillons à frottis positifs [164].

Les études récentes sur l'évaluation de la performance diagnostique de ce test ont montré que la sensibilité par rapport à la culture était de plus de 98 % pour les prélèvements à microscopie positive mais de 68 % pour les prélèvements à microscopie négative [165,166]. Plusieurs études ont rapporté une utilisation réussie du test Xpert MTB / RIF sur des échantillons extrapulmonaires, avec des sensibilités de 80% et une spécificité atteignant 100% [167-170]. Cependant, le nombre d'échantillons dans ces études était faible [169 ;171]. Cette

technique reste donc moins sensible que la culture et un résultat négatif obtenu sur un prélèvement pauci-bacillaire ne permet pas d'exclure une tuberculose [55].

Le test Xpert MTB/RIF est actuellement la seule technique parvenue à maturité et il représente une nouvelle génération de plates-formes de diagnostic moléculaire automatisé. Les autres en sont au stade du prototype et devraient être mises à disposition en temps voulu. Elles devront être soumises au même niveau de validation et d'examen par les experts avant que l'OMS puisse recommander leur mise en œuvre [172].

1.6.3.2. Diagnostic indirecte

➤ Tests cutanés

L'intradermoréaction (IDR) à la tuberculine, mise au point par Mantoux en 1910, est le plus vieux test diagnostique encore utilisé à ce jour [173]. Elle explore l'hypersensibilité retardée induite par un premier contact avec *M. tuberculosis*. Il y a plus de cent ans, elle utilise désormais un extrait antigénique, obtenu à partir de souches de *M. tuberculosis* tuées par la chaleur, appelé DPP, pour dérivé protéique purifié. Ce dernier est constitué de plus de 200 protéines plus ou moins dénaturées [174].

Les professionnels de santé doivent maîtriser parfaitement la réalisation de l'IDR pour en assurer la reproductibilité: injection rigoureusement intradermique, sur la face antérieure de l'avant-bras de 0,1 mL de tuberculine. La lecture se fait à la 72e heure en mesurant le diamètre d'induration (figure 59).

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 [175].

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 (> 200 antigènes communs avec BCG et mycobactéries atypiques) ou suite à un effet « booster » induit par la répétitivité de l'IDR chez un sujet antérieurement « négatif » [176]. Son interprétation est subjective (opérateur dépendante). Le test nécessite deux visites, l'une pour le réaliser, l'autre pour sa lecture : on estime à environ 30 % les patients non compliants qui ne se représentent pas pour la lecture [89].

La positivité de l'IDR n'est aucunement spécifique d'une tuberculose active. En revanche, un virage tuberculique a plus de valeur d'orientation diagnostique surtout dans un pays de forte endémie tuberculeuse [177].

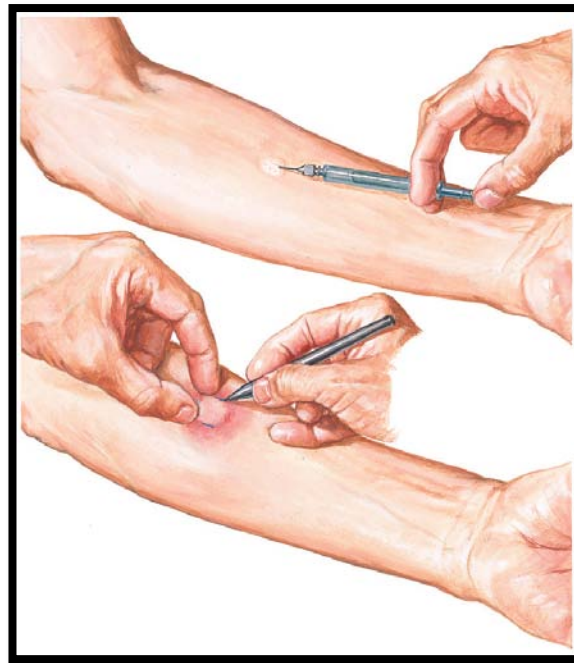


Figure 59: test tuberculinique

A : L'injection de 0,1 ml de tuberculine dans le derme de l'avant-bras forme une papule blanchâtre. Il faut diriger le biseau de l'aiguille vers le haut afin de prévenir une pénétration profonde. B : Le résultat est lu après 48 à 72 h. L'étendue de l'induration est déterminée par l'observation directe et la palpation. Les limites de l'induration sont marquées. La zone d'érythème n'est pas prise en compte [60]

➤ Les tests interféron gamma release assays (IGRA)

Les tests IGRA reposent sur la détection de la production d'IFN γ par les cellules mononuclées sanguines du patient après contact avec des protéines spécifiques de *Mycobacterium tuberculosis*: ESAT-6, CFP-10 et TB7.7 [55]. Ils sont absents de la souche vaccinale et des mycobactéries non tuberculeuses à l'exception de *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* et *M. flavesens* [176]. Ces tests mettent en évidence la réaction immunitaire de type cellulaire, témoin d'une sensibilisation antérieure, sans distinction entre une infection récente ou ancienne [139 ;174 ;178].

Le principal avantage de ces tests est leur bonne spécificité par rapport à l'IDR, puisqu'ils ne présentent pas de réaction croisée induite par la vaccination par le BCG ou par une sensibilisation par des mycobactéries non tuberculeuses [139 ;176].

Deux tests commerciaux ont été développés à partir de ce principe, avec des technologies un peu différentes. Le Quantiféron basé sur la mesure de la production in vitro d'IFN γ par test Elisa (Quantiféron-TB[®]), le taux d'IFN γ est exprimé en ng/ml, le seuil de positivité est de 0,35. Et le test appelé T-SPOT-TB[®] basé sur une technique d'ELISPOT quantifiant le nombre de cellules mononuclées sanguines capables de produire de l'IFN γ en réponse à un contact avec les différents antigènes. Le taux d'IFN γ est exprimé en « spots », avec un seuil de positivité de six spots/10G cellules.

La sensibilité des IGRAs et du test tuberculinique est équivalente avec un léger avantage pour le T-SPOT. La sensibilité du T-SPOT, du QFT-G et de l'IDR est respectivement de 91 %, 83 % et 89 % [179]. L'avantage majeur que présente les tests IGRAs est leur bonne spécificité. Elle est comprise entre 97 % et 100 % [174 ;178]. Cette spécificité est significativement supérieure à celle de l'IDR qui est de 88,7 % [176].

L'étude de El Azbaoui et al. qui a évalué la performance de QFT-G chez 109 enfants marocains atteints de tuberculose cliniquement soupçonnée, a confirmé le diagnostic de tuberculose chez 81 enfants des 109. Les 28 autres enfants n'avaient pas de tuberculose. QFT-G avait une sensibilité de 66% (IC 95% 52-77) pour le diagnostic de la tuberculose et une

spécificité de 100% (IC 95% 88–100). Le test cutané de la tuberculine (TST) avait une sensibilité plus faible, à 46% (95% IC 33–60), et sa concordance avec QFT–GIT était limitée (69%). La combinaison des résultats QFT–GIT et TST a augmenté la sensibilité à 83% (95% CI 69–92) [180].

Les tests immunologiques ne doivent être utilisés que pour le seul diagnostic de tuberculose latente et uniquement dans l'objectif d'un traitement. Pour le diagnostic de la tuberculose maladie, ces tests ne doivent pas être indiqués en pratique courante mais peuvent toutefois apporter une aide dans certains cas de diagnostic difficile [55]. Bien que non indiqué pour le diagnostic de la tuberculose maladie, l'intérêt du dosage de l'IFN γ et sa variation sous traitement reste discuté et variable selon la localisation de la maladie [176 ;181,182].

I.7. Prévention

Comme dans toute maladie infectieuse, la prévention s'attaque à chacune des étapes du cycle de vie de l'agent pathogène à savoir le réservoir, la transmission et le vecteur. Ainsi, la prévention de la tuberculose, maladie interhumaine dont la transmission se fait de manière quasi exclusive par voie aérienne, revient à diminuer le réservoir humain du *M. tuberculosis* et à éviter sa transmission [183].

La prévention de la transmission peut se résumer en deux points :

diminuer le risque de contact potentiel avec le germe par des mesures visant le patient potentiellement contaminant et les sujets en contact avec lui, particulièrement en milieu hospitalier ;

Diminuer le risque de développer une infection tuberculeuse suite à un contact avec un patient bacillifère en stimulant la réponse immunitaire spécifique grâce à la vaccination par le BCG [69].

I.7.1. 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.

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 [69].

I.7.2. La vaccination par le BCG

Le BCG est le seul vaccin vivant d'origine bactérien chez l'homme, résultant d'un atténuation de la virulence de *M.bovis* (Calmette et Guérin en 1921). Il est appliqué massivement depuis la fin de la seconde guerre mondiale et a montré une efficacité très variable d'une population à une autre. Le BCG est injecté par voie intradermique de manière à stimuler une réaction immunitaire à médiation cellulaire et humorale de l'organisme sans pour autant provoquer la maladie [184].

Le vaccin BCG confère une meilleure protection contre les formes graves de TB (milliaire, extrapulmonaire et méningée) que contre les formes pulmonaires. Il n'empêche pas la survenue d'une primo-infection tuberculeuse, et encore moins la réactivation d'une TB pulmonaire latente. Son effet sur la transmission du bacille tuberculeux est par conséquent limité. Néanmoins, l'OMS maintient ses recommandations concernant la vaccination systématique des enfants dès la naissance dans les pays à forte prévalence de TB du fait de l'effet protecteur avéré du vaccin BCG contre la méningite tuberculeuse et la TB disséminée chez l'enfant [185].

Suite au décret du ministère de la santé, la réglementation au Maroc préconise la vaccination pour chaque naissance dès le premier mois, comme obligation pour que les

autorités puissent les enregistrer dans les cahiers de l'état civil. Ainsi, la protection conférée par le BCG étant insuffisante, la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans la physiologie de la maladie (mécanisme d'échappement au système immunitaire, caractérisation de l'état de persistance aux formes graves) assurera une meilleure réponse pour la mise en place de nouvelles stratégies vaccinales.

I.7.3. La chimio prophylaxie

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. 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. 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. Cependant, avant que ce traitement ne soit démarré, une potentielle tuberculose active doit être exclue [69].

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 [186].

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 [69].

Des publications récentes ont rapporté une bonne efficacité de l'administration hebdomadaire d'INH associé à la Rifapentine pendant 12 semaines [187]. Cependant, l'innocuité et l'efficacité de ce régime chez les enfants et les personnes infectées par le VIH est en cours d'évaluation [69].

En cas de suspicion d'ITL chez les sujets VIH+, 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 [188]. 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 chimio prophylaxie doit être administrée à ces patients quel que soit le degré d'immunodépression et ne doit pas retarder le début du traitement antirétroviral [188].

Actuellement, le traitement par les anti-TNF 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 [69]. Le traitement prophylactique chez les sujets candidats au traitement anti-TNF et qui sont à risque de réactivation de tuberculose comprend actuellement deux schémas possibles, l'isoniazide seul pendant 9 mois ou l'association rifampicine et isoniazide pendant 3 mois. Ce traitement doit être débuté au moins trois semaines avant l'instauration du traitement anti-TNF [189].

I.7.4. Stratégie DOTS (Directly Observed Treatment, Short course)

En 1993, l'OMS considère l'état de tuberculose comme préoccupant et en fait une urgence mondiale. La stratégie de lutte contre l'expansion du BK est décrite dans le programme Directly Observed Treatment Short-course (DOTS). Cette stratégie implique :

- L'engagement politique et financier accru,
- Un dépistage de qualité reposant sur l'examen direct de frottis,
- Un traitement normalisé des patients avec surveillance directe de la prise du traitement,
- L'approvisionnement ininterrompu en antituberculeux de qualité,
- Le suivi et l'évaluation des effets de la mise en place du programme DOTS.

Les objectifs principaux annoncés de ce plan de lutte pour arriver à l'éradication de l'épidémie, étaient le dépistage de 70% des cas de TB maladie et la guérison de 85% d'entre eux auraient dû être atteint en 2005. Les résultats actuels ne sont pas si optimistes mais

restent encourageant avec 60% de nouveau cas à frottis positifs dépistés et un taux de guérison de 84% [190].

I.7.5. Le Plan Halte à la tuberculose

La situation tend à s'améliorer. L'OMS et le partenariat HALTE à la tuberculose recommandent une approche visant l'éradication mondiale de la TB d'ici 2050. En 2001, après des résultats encourageants obtenus avec la stratégie DOTS mais face à la dégradation de la situation épidémique dans certains pays d'Afrique et d'Europe de l'Est notamment, l'OMS a décidé de renforcer la stratégie DOTS et a lancé le plan mondial «Halte à la TB» visant « un monde sans TB» et dont l'objectif principal était de réduire l'incidence de la maladie dans le monde. La TB sera considérée comme éradiquée lorsque son incidence passera en dessous du seuil de 1cas/100 000 habitants par an [191]. Ainsi, le programme propose de lutter contre les principaux facteurs favorisant la propagation de la maladie et s'organise en six lignes directrices:

- Poursuivre l'extension du programme DOTS,
- Lutter contre les cas de coïnfection TB/VIH et la TB-MDR,
- Contribuer au renforcement des systèmes de santé,
- Impliquer l'ensemble des soignants,
- Donner des moyens d'agir aux malades et aux communautés,
- Renforcer la recherche.

I.7.6. La tuberculose dans les objectifs de développement durable

L'année 2015 marque la date limite pour les objectifs mondiaux de lutte contre la tuberculose, et est une phase de transition des Objectifs du Millénaire pour le développement « OMD » à une nouvelle ère des objectifs de développement durable (ODD). C'est une nouvelle stratégie à l'échelle mondiale qui met fin à l'épidémie mondiale de la tuberculose à partir de l'année 2016, qui a été adoptée par l'Assemblée de Santé en Mai 2014. Elle sert à inverser les tendances d'incidence à 80% et à réduire le nombre de décès par tuberculose de 90% en 2030 (par rapport à l'année 2015) [192].

I.8. Traitement

La Tuberculose est une maladie curable si un traitement approprié est prescrit à temps et est scrupuleusement respecté par le malade. Ce traitement a trois objectifs principaux. Le premier consiste à réduire rapidement la population de bactéries répliquées afin de résoudre les symptômes, prévenir la mort et prévenir la transmission de l'infection. Le deuxième consiste à éliminer les sous-populations de bactéries persistantes qui pourraient causer une rechute après avoir arrêté le traitement et ainsi obtenir une guérison durable. Le troisième consiste à prévenir l'apparition de la résistance aux médicaments pendant la thérapie. La thérapie combinée, l'utilisation simultanée d'antibiotiques multiples, est nécessaire pour atteindre ces objectifs.

Les médicaments antituberculeux sont regroupés en cinq groupes en fonction de l'efficacité, de la puissance, de l'expérience d'utilisation et de la classe des médicaments (tableau 8) [193, 194]. Les médicaments du groupe 1 «première ligne» sont ceux recommandés pour le traitement de la tuberculose susceptible d'être sensible. Les médicaments «de deuxième ligne» (groupes 2, 3, 4) sont généralement réservés à la tuberculose résistante aux médicaments. Les médicaments de troisième intention (Groupe 5) ont une efficacité peu claire et / ou un rôle peu clair dans le traitement de la tuberculose, bien que pour certains médicaments du groupe 5, cela reflète davantage une lacune dans notre connaissance que les insuffisances des médicaments eux-mêmes [195].

I.8.1. Les antibiotiques de première ligne

1.8.1.1. Rifamycines

Trois composés dérivés de la rifamycine ont une activité anti-tuberculeuse : la rifampicine, la rifabutine et la rifapentine. La RFB et la RFP ont des demi-vies plus longues et des concentrations minimales inhibitrices plus élevée que la RMP pour *M.tuberculosis*, ce qui autorise une prise bihebdomadaire pour la RFB, et hebdomadaire pour la RFP, la prise de RMP restant quotidienne.

La RMP est active par voie orale sur diverses espèces de mycobactéries dont les bacilles tuberculeux. La RMP est le seul antituberculeux actif sur toutes les populations de BK et notamment sur ceux contenus dans le caséum. In vitro, un BK sur 107 est un mutant résistant à la RMP qui ne doit donc pas être administrée seule. Après prise orale, la RMP est absorbée en totalité si elle est prise à jeun et suffisamment à distance de toute prise alimentaire. A la dose de 10mg/kg/j, les taux plasmatiques sont 50 à 100 fois supérieurs à la concentration minimale inhibitrice [72].

La RFB est bien tolérée chez les malades qui ont des effets secondaires liés à la prise de RMP, excepté pour les effets dermatologiques, ce qui fait de la RFB un substitut possible à la RMP en cas d'intolérance [196]. C'est aussi en cas de co-infection un candidat au remplacement de la RMP si le traitement antirétroviral comporte un inhibiteur des protéases [197]. La résistance croisée avec la rifampicine est incomplète, au moins un tiers des souches de *M.tuberculosis* résistantes à la rifampicine restent sensibles à la RFB [72].

1.8.1.2. INH

L'isoniazide est un antituberculeux majeur, bactéricide pour les mycobactéries intra- et extracellulaires, actif par voie orale. Il agit sur *M.tuberculosis*, *M.bovis* et *M.africanum*. L'absorption digestive est quasi complète, et une prise unique quotidienne de 5mg/kg assure des taux plasmatiques 40 à 60 fois supérieurs à la concentration minimale inhibitrice [72].

Les effets indésirables sont hépatiques et neurologiques. Les complications hépatiques sont rares, inférieures à 1% ; elles consistent en une cytolyse très sévère. Les facteurs de risques sont une insuffisance hépatique, l'éthylisme, un âge supérieur à 50 ans, et la poursuite prolongée du traitement après l'apparition des premiers signes de cytolyse hépatique [72].

1.8.1.3. Ethambutol

L'EMB est le dérivé de l'éthylène diamine, bactériostatique sur *M.tuberculosis*, *bovis* et *africanum*. Il agit sur les germes se multipliant dans la paroi des lésions caséuses et sur les bacilles dans les phagocytes. L'EMB pris par voie orale est absorbé à 80%. Les effets

indésirables sont avant tout de type oculaire, avec risque de névrite optique rétrobulbaire, de survenue en fait très rare, à craindre chez l'alcoolique, l'alcoolotabagique, les sujets présentant des anomalies de la vision et en cas de traitement prolongé [72].

1.8.1.4. Pyrazinamide

Le PZA est l'amide de l'acide pyrazinoïde, analogue synthétique pyraziné du nicotinamide. Le PZA est bactéricide sur le BK en milieu acide (PH 5.5). Il est rapidement absorbé par voie orale. La demi-vie sérique de 4 à 10 heures est allongée en cas d'atteinte hépatique. A la posologie de 35 mg/kg/j, les effets indésirables sont rares. Particulier au PZA est un rash cutané vasomoteur observé au début de traitement, durant quelques heures, se renouvelant après chaque prise, disparaissant habituellement avec la réduction de la posologie à demi-dose pendant quelques jours [72].

I.8.2. Les antibiotiques de deuxième ligne

Les antibiotiques de seconde ligne ne sont pas utilisés en première intention car ils présentent de nombreuses contraintes : ils ont des capacités stérilisantes limitées, ils sont plus chers et ont des effets secondaires majeurs. Leur utilisation nécessite une assistance médicale accrue car certains de ces antibiotiques doivent être injectés aux patients. Enfin, ils allongent la durée du traitement à 18-24 mois [198]. Les antibiotiques de seconde ligne peuvent être classés en six familles : les aminoglycosides, les peptides cycliques, les fluoroquinolones, les thioamides, la cyclosérine et l'acide para-aminosalicylique.

Ces antibiotiques ciblent la synthèse des acides (désoxy)ribonucléiques, la synthèse protéique ou la production d'éléments de l'enveloppe essentiels à la survie du bacille tuberculeux. Plusieurs mécanismes impliqués dans la résistance de *M.tuberculosis* à ces antibiotiques. Depuis 2006, des isolats cliniques de *M. tuberculosis* résistants aux antibiotiques de 2 ème ligne les plus efficaces ont été isolés dans 58 pays [199].

Tableau VIII: Classifications existantes des médicaments antituberculeux (1 et 2) et éventuels changements futurs basés sur des preuves récentes (3)[200]

(1) Classification des médicaments anti-tuberculeux OMS 2011		(2) Classification des médicaments anti-tuberculeux OMS 2016		(3) Evolutions possibles dans le future			
Groupe 1 Médicaments antituberculeux oraux de première intention	Isoniazide	Groupe A Fluoroquinolones	Levofloxacin		Groupe A Fluoroquinolones	Levofloxacin	
	Rifampicine		Moxifloxacin			Moxifloxacin	
	Ethambutol		Gatifloxacin			Gatifloxacin	
	Pyrazinamide						
Groupe 2 Médicaments antituberculeux injectables (Agents injectables ou parentéraux)		Groupe B Médicaments injectables de deuxième ligne	Amikacine		Groupe B Autres médicaments de base de deuxième ligne	Bedaquiline	
	Streptomycine		Capreomycine			Delamanid	
	Knamycine		Knamycine (Streptomycine)			Ethionamide/Prothionamide	
	Amikacine					Cycloserine/ terizidone	
	Capreomycine					Linezolid	
Groupe 3 Fluoroquinolones	Levofloxacin	Group C Autres médicaments de base de deuxième ligne	Ethionamide/Prothionamide		Groupe C Médicaments injectables de deuxième ligne	Amikacine	
	Moxifloxacin		Cycloserine/ terizidone			Capreomycine	
	Gatifloxacin		Linezolid			Knamycine	
	Ofloxacin		Clofazimine			Meropenem/cclavulanate	
Groupe 4 Médicaments anti-TB bactériostatiques oraux de deuxième intention	Ethionamide/Prothionamide	Groupe D Médicaments complémentaires (pas les composants principaux de la thérapie MDR-TB)	D1	Pyrazinamide	Groupe D Médicaments complémentaires (pas les composants principaux de la thérapie MDR-TB)	Pyrazinamide	
	Cycloserine/ terizidone			Ethambutol		Ethambutol	
	p-Aminosalicylic acid			Isoniazide à forte dose		Isoniazide à forte dose	
Groupe 5 Médicaments antituberculeux ayant des données limitées sur l'efficacité et la sécurité à long terme dans le traitement de la tuberculose résistante aux médicaments	Linezolid		D2	Bedaquiline		Bedaquiline	p-Aminosalicylic acid
	Clofazimine			Delamanid		Delamanid	Amoxicilin-clavulanate
	Amoxicilin-clavulanate			p-Aminosalicylic acid		p-Aminosalicylic acid	Rifabutine
	Meropenem			Imipenem-cilastatin			
	Isoniazide à forte dose			Meropenem			
	Thioacetazone			Amoxicilin-clavulanate			
	Clarithromycine			(Thioacetazone)			

I.8.3. Indication du traitement

En fonction de la TB rencontrée (TB-maladie ou TB-infection), de sa localisation et de son degré de gravité, du résultat du frottis, du résultat de l'antibiogramme, des antécédents de traitement du patient ; l'OMS a défini des schémas thérapeutiques normalisés adaptés en fonction du type de tuberculose rencontré mais aussi en fonction des systèmes de santé des pays qui auront à les appliquer et de leurs moyens financiers disponibles [201].

I.8.3.1. Traitement de la tuberculose à bacilles sensibles

Le traitement standardisé de la TB maladie, qu'elle soit pulmonaire ou extrapulmonaire, d'une durée de six mois à neuf mois, comporte deux phases. Pendant les deux premiers mois (phase initiale), le traitement est une quadrithérapie associant INH, RIF, PZA, et EMB. Il s'en suit une bithérapie (phase de continuation) d'une durée de quatre à sept mois alliant RIF et INH (tableau 9).

Traitement de la tuberculose à bacilles résistants et multi-résistants :

Tableau IX: Schéma thérapeutique

Type de tuberculose	Régime
<ul style="list-style-type: none"> • Tuberculose pulmonaire à microscopie positive. • Les tuberculoses aiguës et graves mettant en jeu le pronostic vital et/ou fonctionnel: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Tuberculose miliaire. ✓ Tuberculose multifocale (atteinte de 2 organes ou plus non contigu) ✓ La tuberculose broncho-pneumonique étendue. ✓ La tuberculose intestinale, rénale, péricardique. ✓ La tuberculose extensive chez les sujets vivant avec le VIH. • Tuberculose pulmonaire à microscopie négative. • Tuberculose pulmonaire à microscopie négative et à culture positive. • Primo-infection tuberculeuse. • Tuberculose extrapulmonaire. 	2RHZE/4RH
<ul style="list-style-type: none"> • La tuberculose neuro-méningée. • La tuberculose ostéo-articulaire (y compris le mal de pott) 	2S(RHZ)/7RH
<ul style="list-style-type: none"> • Rechute. • Echec de traitement. • Reprise de traitement après abandon. 	3RHZE/5RHE

En dépit de sa toxicité, c'est la durée du traitement, le plus souvent supérieure à six mois, qui est à l'origine de la mauvaise observance des patients. Ce phénomène est le principal mode de sélection des souches MDR voire XDR et nécessite l'emploi d'ATB de seconde ligne lors de la prise en charge du patient. Ces ATB de seconde ligne (aminoglycosides, fluoroquinolones, acide paraaminosalicylique, thioamides) sont moins efficaces et plus toxiques que ceux de première intention rendant ainsi le traitement bien plus compliqué qu'en présence d'une souche sensible [202].

Les lignes directrices de l'OMS sur les schémas thérapeutiques pour la TB-MDR recommandent actuellement une phase intensive de 8 mois et une durée totale du traitement de vingt quatre mois pour la plupart des patients [191].

Un médicament candidat- anti-tuberculeuse (TBA-354) est en phase I d'essai. Plusieurs nouveaux schémas de traitement de la tuberculose sensible et/ou résistante aux médicaments antituberculeux sont testés dans des essais en phase II ou en phase III; au moins deux autres essais devraient commencer début 2016. L'OMS a publié des directives provisoires sur l'utilisation de bédaquiline en 2013 et Delamanid en 2014[192].

43 pays ont déclaré vers fin 2014, avoir utilisé la bédaquiline pour traiter les patients dans le cadre des efforts visant à élargir l'accès au traitement pour la TB-MR [192].

1.8.3.2. Traitement de la tuberculose : Nouvelles molécules

Les nouvelles fluoroquinolones (FQs), notamment la Moxifloxacin (MXF) et la Gatifloxacin (GXF), montrent une meilleure activité in vitro que les « anciennes » FQs (Ofloxacin et la Ciprofloxacin), par leur action inhibitrice stable de l'ADN gyrase, leur paramètres pharmacocinétiques et dynamiques favorables et une bonne tolérance sur le long terme [203]. Les oxazolidinones, représentés par le Linezolid (LZD) et le PNU-100480, sont utilisés pour leurs propriétés antibactériennes. Ils agissent en inhibant la synthèse protéique par liaison à la sous unité 50S ribosomal, empêchant ainsi la formation du complexe d'initiation. Le LZD a de bonnes propriétés pharmacocinétiques mais son efficacité est controversée par ses effets secondaires. Le PNU-100480 dérive du LZD et montre une

meilleure activité in vitro contre *M. tuberculosis*. En raison des effets secondaires de cette classe de médicaments, leur utilisation n'est envisagée que dans le traitement de la TB-MDR. Les rifamycines sont représentées par la Rifapentine (RFP), Rifalazil (RFL), Rifabutine (RFB), elles présentent des demi-vies beaucoup plus longues et des concentrations minimales inhibitrices (CMI) plus élevées pour *M. tuberculosis* que la RIF. La RFL n'a pas d'intérêt en raison de sa toxicité. La RFP est la molécule la plus intéressante, elle possède une demi-vie plus longue que la RIF, ce qui permettrait de raccourcir le traitement, son utilisation est envisagée en combinaison avec la MXF.

Les diarylquinolones représentent une nouvelle famille d'antibiotiques. La molécule la plus active est le R207910 (TMC207). Son mode d'action est unique parmi tous les ATB: elle inhibe l'ATP synthétase bactérienne (sous unité *atpE*), entraînant une déplétion des réserves en ATP des mycobactéries, notamment des formes persistantes. Du fait de son nouveau mécanisme d'action, il n'y a pas de résistance croisée avec les autres ATB et l'antibiotique conserve toute son activité sur les souches MDR et XDR [204].

Une étude récente a montré également que le TMC207 tue efficacement les bacilles dormants, de ce fait elle peut être la molécule idéale pour éradiquer le bacille en état de latence au sein du granulome. Les nitroimidazolés sont représentés par le PA-824 et l'OPC-67683.

Le PA-824 est un pro-médicament qui est activé par une bioréduction catalysée par l'association du cofacteur F420 et d'une protéine spécifique de *M.tuberculosis* Rv3547. Il inhibe la synthèse des acides mycoliques de la paroi bactérienne. Il est actif contre les populations aérobies et anaérobies de *M.tuberculosis*, ce qui devrait le rendre efficace contre la tuberculose latente. Il n'a pas d'effets secondaires et possède des paramètres pharmacocinétiques intéressants, son utilisation est envisagée dans les thérapies sans RIF, notamment anti-VIH.

L'OPC-67683 semble être 10 à 20 fois plus actif que le PA-824 et possède un potentiel bactéricide intéressant à basse concentration, il est également actif contre les formes latentes du bacille.

Le SQ109 fait partie des familles des diamines qui sont dérivés de l'EMB, c'est un inhibiteur de la synthèse de la paroi cellulaire de la mycobactérie. In vivo et in vitro, le SQ109 est plus efficace que l'EMB et à 4 fois la CMI, autant que l'INH. Il est doté d'un pouvoir bactéricide rapide, sa lipophilie qui lui assure une bonne diffusion cellulaire et sa longue demi-vie sont encourageants pour espérer de raccourcir la durée du traitement.

I.9. Résistance aux anti-bacillaires

La résistance d'une souche de *M. tuberculosis* aux médicaments a été définie par la présence d'un degré de sensibilité nettement inférieur à celui d'une souche sauvage qui n'a jamais été en contact avec le médicament [205].

I.9.1. Concepts de base au sujet du développement d'une tuberculose à germes résistants aux médicaments antituberculeux

La résistance naturelle du bacille tuberculeux à l'égard de nombreux antibiotiques est expliquée par :

- Le caractère hydrophobe de son enveloppe cellulaire qui agit comme barrière de perméabilité.
- La présence dans le bacille d'enzymes capables de modifier certains médicaments notamment par hydrolyse.
- L'existence de nombreux systèmes d'excrétion potentiellement capables d'assurer une élimination des médicaments hors du bacille.

Le développement des résistances médicamenteuses aux antibacillaires n'est pas un phénomène récent, il a été observé peu après l'introduction des premiers antituberculeux. En 1948 déjà, on a pu démontrer que 85% des souches de mycobactéries des malades recevant une monothérapie à base de la streptomycine devenaient résistantes en l'espace de quelques semaines à quelques mois [206].

La résistance génétique à un médicament antituberculeux résulte de l'action combinée de deux phénomènes : les mutations spontanées dans le chromosome de MTB suivies de la sélection des mutants par une chimiothérapie inadéquate.

Les souches de MTB sauvages n'ayant jamais été en contact avec un médicament antituberculeux sont globalement sensibles aux produits utilisés en clinique pour le traitement de la tuberculose.

1.9.1.1. Les mutations spontanées

La fréquence des mutations spontanées génératrices de résistance au sein des populations bacillaires « sauvages » est minime et varie selon les médicaments antituberculeux, elle concerne environ 10^{-6} à 10^{-8} divisions mycobactériennes. Les éléments génétiques mobiles, comme les plasmides et les transposons, dont on sait qu'ils sont les médiateurs de la résistance aux médicaments dans diverses espèces bactériennes, ne le sont pas chez *M. tuberculosis*. Comme de telles mutations entraînant une résistance aux médicaments ne sont pas liées, la probabilité du développement d'une résistance bacillaire à l'égard de trois médicaments utilisés simultanément passe à 10^{-18} - 10^{-20} . En théorie, les risques de résistance aux médicaments sont donc virtuellement inexistantes lorsque l'on utilise trois médicaments efficaces en combinaison pour le traitement de la TB [207].

1.9.1.2. Modalités de la sélection des mutants

Une souche bactérienne peut devenir cliniquement résistante (résistance secondaire) suite à la sélection des mutants, cette sélection résulte de diverses causes :

- Régimes thérapeutiques inadéquats surtout la monothérapie.
- Adhésion thérapeutique déficiente (abandon précoce ou sélection d'une partie des médicaments) [199].
- Malabsorption ou interactions médicamenteuses [208].

La transmission subséquente de souches résistantes de MTB depuis le cas « index » vers d'autres personnes engendre une résistance primaire. Le phénotype MDR/XDR est causé

par une accumulation séquentielle de mutations dans différents gènes impliqués dans la résistance individuelle aux médicaments antituberculeux.

Si la résistance se manifeste contre les deux antituberculeux les plus actifs, l'isoniazide et la rifampicine, la souche est dite multirésistante (MDR-TB). Et depuis 2005, cette résistance a franchi un pallier et on parle désormais de souche XDR (pour extensive ou extreme drug resistance) : il s'agit de souches résistantes non seulement à l'isoniazide et à la rifampicine, mais aussi aux fluoroquinolones et à au moins un des antibiotiques injectables suivants : capreomycine, kanamycine et amikacine [209, 210].

1.9.1.3. Mécanismes de résistance aux médicaments de première ligne

Les antituberculeux de première ligne sont des molécules considérées comme les plus actives à ce jour : l'isoniazide (INH), la rifampicine (RIF), le pyrazinamide (PZA), la streptomycine (SM) et l'éthambutol (EMB) (figure 60).

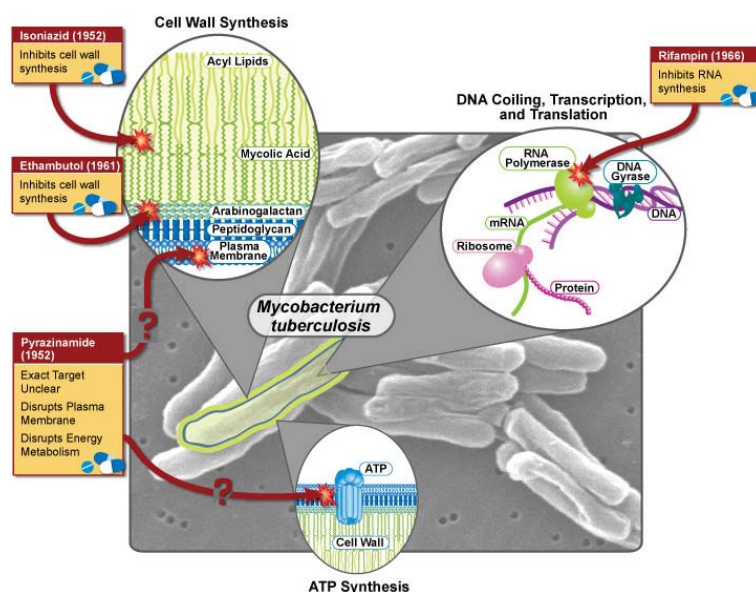


Figure 60: Antibiotiques de première ligne utilisés pour le traitement de la tuberculose sensible et leur mode d'action

1.9.2. La résistance à la rifampicine

1.9.2.1. La rifampicine

La rifampicine (RIF) fut introduite dans le traitement antituberculeux en 1966. Elle est devenue un composant clé du régime thérapeutique vu son action bactéricide contre MTB. Avec l'INH, la RIF constitue la base de chimiothérapie antituberculeuse.

1.9.2.2. Mode d'action de la RIF sur MTB

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).

Elle se lie au sous unité β de l'ARN polymérase inhibant ainsi l'initiation de la transcription. Cette sous unité est codée par le gène *rpoB*.

1.9.2.3. Mutations observées

Pour *M. tuberculosis*, la résistance à la RIF survient à une fréquence de 10^{-7} à 10^{-8} [204]. Des mutations ponctuelles, des délétions ont été observées chez 96% des isolats cliniques résistants à la RIF (RIF^R) dans une région de 81 paires de bases du gène *rpoB*. Cette région encore appelée RRDR (Rifampin Resistance Determining Region) s'étend du codon 507 au codon 533 et code pour 27 acides aminés [211,212]. D'après les rapports antérieurs d'autres régions géographiques, les deux mutations Ser531Leu et His526Tyr sont responsables de plus de deux tiers des cas de résistance à la RIF [212, 213]. En effet, selon l'étude Marocaine, 59,6% des isolats RIF^R présentent des mutations au niveau du codon 531, alors que 8,5% ont des mutations ponctuelles au niveau du codon 526 [214]. D'autres mutations et délétions sont données dans le tableau (Tableau 10). En revanche, 15% des souches résistantes au RIF n'avaient pas de mutations dans le RRDR. Ces isolats ont été soumis à un nouveau test de sensibilité à la RIF, et leurs modèles de résistance ont été confirmés. Pour ces souches, il est possible que des mutations conférant une résistance à la RIF soient présentes ailleurs dans le gène *rpoB* (comme un V146F, que l'on trouve fréquemment chez des souches de *M. tuberculosis* récupérées chez des patients d'origine moyen-orientale) [214,215] ou des changements se sont produits dans un ou plus de gènes dont les produits participent à la perméabilité ou au métabolisme des antibiotiques [214]. Il est possible que deux mutations se produisent chez la même souche soit dans deux codons

séparés ou encore dans un seul codon telles que la substitution de l'histidine (CAC) par la cystéine (TGC) au niveau du codon 526 du gène *rpoB* [211,212].

En outre, il existe un lien entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la RIF et les changements structuraux au niveau du gène *rpoB*. Une forte corrélation a été trouvée entre ces deux paramètres : les mutations 531, 516 et 513 confèrent un niveau élevé de résistance à la RIF alors que les mutations localisées au niveau des codons 514, 521 et 523 résultent d'une CMI faible [211,212].

Les souches cliniques de MTB résistantes uniquement à la RIF (monorésistantes) sont rares. En effet, l'acquisition de la résistance à la RIF s'observe en général chez des souches déjà résistantes à l'INH. Ainsi, la résistance à la RIF est considérée comme un marqueur des souches MDR [216, 217].

Actuellement, la monorésistance à la RIF commence à prendre de l'ampleur avec apparition des mutations au niveau des gènes *rpoA* et *rpoC* (mutation compensatoires) [218].

En outre, d'autres mutations en dehors de la région RRDR peuvent avoir un rôle dans le fitness, ces mutations sont toujours associés à d'autres affectant la région RRDR, elles assurent une croissance rapide et une dissémination plus large des souches résistantes à la RIF.

La résistance à la RIF croise généralement avec les autres molécules de la famille des rifamycines (rifampine, rifapentine, rifabutine). Cependant, une molécule apparentée aux rifamycines, KRM-1648 faisant l'objet de recherches pourrait être active contre certains mutants RIFR [212].

Tableau X: RRDR dans le gène *rpoB* de 47 souches de *M. tuberculosis* résistantes au RIF au Maroc [214]

Codon position	Nucleotide change	Amino acid substitution	Frequency of mutations n (%)
511	CTG → CCG	Leu → Pro	1 (2.1)
514–515 Δ	TTC-ATG → TTG	Phe-Met → Leu	1 (2.1)
516	GAC → GTC	Asp → Val	2 (4.2)
516	GAC → TAC	Asp → Tyr	1 (2.1)
519–520 Δ	AAC-CCG Δ	Asn-Pro Δ	1 (2.1)
522	TCG → TTG	Ser → Leu	2 (4.2)
526	CAC → TAC	His → Tyr	4 (8.5)
531	TCG → TTG	Ser → Leu	25 (53.2)
531	TCG → TGG	Ser → Trp	3 (6.4)
—	No mutation	No substitution	7 (15)
Total			47 (100)

RRDR = RMP resistance determining region; RMP = rifampicin.

I.9.3. La résistance à l'isoniazide

I.9.3.1. L'isoniazide

L'isoniazide (INH) a été synthétisé à partir d'isonicotinate d'éthyl et d'hydrazine en 1912 à Prague par Meyer et Mally. Son activité antituberculeuse n'a été découverte que 40 ans plus tard, en 1952. Sa spécificité pour les mycobactéries, sa haute efficacité et sa faible toxicité ont fait de cette molécule le pilier de lutte contre la TB dans le monde entier [219, 220].

I.9.3.2. Mode d'action de l'INH sur MTB

A l'opposé de beaucoup d'autres médicaments antituberculeux, l'activité antibactérienne de l'INH se limite essentiellement au MTBC. 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. Il semble agir selon divers mécanismes dont l'inhibition de la synthèse des acides mycoliques est la plus connue. Après oxydation de l'INH par le système catalase-peroxydase, le produit intermédiaire (l'acide isonicotinique) inhibe l'activité de l'enoyl-ACP-réductase impliquée dans la biosynthèse des acides mycoliques de la paroi mycobactérienne. L'INH est donc une « prodrug », qui agit en inhibant la synthèse des acides mycoliques [207].

La résistance à l'INH est plus complexe que celle à la RIF, elle est contrôlée par plusieurs gènes à savoir : katG, inhA, ahpC, kasA et ndh. Elle est due principalement à des mutations au niveau du gène katG codant pour la catalase-péroxydase. En effet, plusieurs études ont montré une forte corrélation entre la résistance à l'INH et la perte de l'activité de la catalase. Ces mutations altèrent la structure de l'enzyme et réduisent son habilité à métaboliser l'INH (conversion de l'INH prodrug en acide isonicotinique (INH activé)) (figure 61).

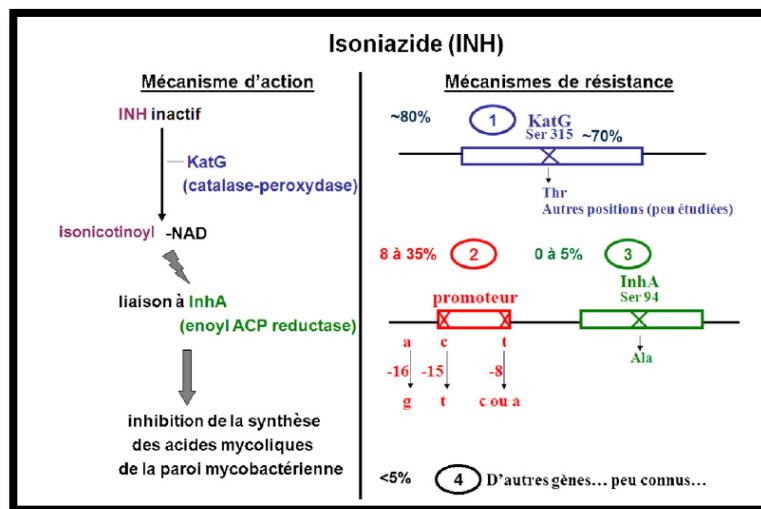


Figure 61: Schéma des mécanismes d'action et de résistance de l'isoniazide [220]

I.9.4. La résistance à la streptomycine

I.9.4.1. La streptomycine

La streptomycine est un aminocyclitol glycoside utilisé en première intention pour traiter la tuberculose.

I.9.4.2. Mode d'action de la streptomycine sur MTB

La streptomycine (SM) se fixe sur les ribosomes bactériens (ARNr 16S) inhibant ainsi l'initiation de la traduction.

I.9.4.3. Mutation observées

Les mutations associées à la résistance à la SM ont été identifiées au niveau de deux gènes rrs (ARNr 16S) et rpsL codant pour la protéine ribosomale S12. Contrairement aux

autres bactéries, les membres du MTBC présentent une seule copie du gène ARNr. Par conséquent, un changement d'un seul nucléotide induit une résistance à la SM [212].

I.9.5. La résistance au pyrazinamide

I.9.5.1. Le pyrazinamide

Le pyrazinamide (PZA), analogue structural de la nicotinamide, est un antibiotique utilisé en première intention dans le traitement de la tuberculose, 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 [207].

I.9.5.2. Mode d'action du pyrazinamide

En milieu acide, la PZA a une activité bactéricide sur les bacilles quiescents, cette activité est renforcée dans des conditions de faible oxygénation ou d'anaérobiose [221].

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* [222]. Il est supposé que dans l'environnement acide du phagolysosome, le bacille produit cette enzyme.

Il a été démontré que la déficience d'activité de la pyrazinamidase due aux mutations de *pncA* est la cause principale de la résistance au PZA [222–224]

I.9.6. La résistance à l'éthambutol

I.9.6.1. L'éthambutol

C'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.

I.9.6.2. Mode d'action de l'éthambutol sur MBT

L'EMB est un agent bactériostatique actif sur les bacilles au stade de multiplication et inefficace sur les bacilles « dormants » [207]. Il inhiberait l'incorporation des acides mycoliques dans la paroi cellulaire en agissant sur une arabinosyltransférase (cette enzyme transfère normalement l'arabinogalactane à l'intérieur de la cellule). Trois gènes organisés en opéron : *emBA*, *emBB* et *emBC* codent pour cette enzyme. Une mutation au niveau de l'opéron

ABC induit une altération de l'enzyme et donc l'EMB ne peut plus agir induisant ainsi la résistance de MTB à cet ATB [216 ;225].

I.10. Etude de la sensibilité aux anti-bacillaires

I.10.1. Test de détection phénotypique

I.10.1.1. L'antibiogramme par la méthode des proportions

La méthode classiquement utilisée pour mesurer la sensibilité aux antibiotiques d'une souche du complexe *M.tuberculosis* est la méthode des proportions qui permet de déterminer la proportion de bacilles résistants à chaque antibiotique [205]. Cette technique consiste à ensemencer des milieux de Lowenstein contenant une « concentration critique » d'antibiotique définie comme la concentration nécessaire pour inhiber au moins 95 % des souches sauvages (cette concentration peut être différente selon le milieu utilisé) et des milieux témoins sans antibiotique avec un inoculum constant, ceci de façon à dénombrer les colonies sur les différents milieux et à calculer ainsi le pourcentage de mutants résistants. La souche sera dite sensible si le pourcentage de mutants résistants est inférieur à la « proportion critique » défini pour chaque antibiotique, 1 % pour l'isoniazide, rifampicine et streptomycine, 10 % pour pyrazinamide et les antibiotiques de 2e ligne [226].

Les résultats sont obtenus après trois à six semaines d'incubation, délai nécessaire au développement des colonies, soit souvent deux à trois mois après la mise en culture du prélèvement. Lorsque l'examen microscopique du prélèvement révèle une quantité suffisante de bacilles (au moins quatre à cinq par champ microscopique après coloration à l'auramine), on peut effectuer l'antibiogramme directement à partir du prélèvement. Les résultats sont alors disponibles en même temps que ceux de la culture, c'est-à-dire en 3 à 4 semaines [159].

L'antibiogramme standard, qui mesure la sensibilité aux antibiotiques de première ligne, donne de bons résultats sauf avec le pyrazinamide, antibiotique qui n'est actif qu'à un pH très acide peu favorable à la croissance de *M.tuberculosis* [159]. Par conséquent, la détermination de la proportion critique de bacilles résistants au pyrazinamide doit comparer

la croissance sur le milieu avec antibiotique a celle d'un témoin du même milieu acidifie (pH6.6) [226].

L'antibiogramme est particulièrement important pour bien mener le traitement lorsque les malades rechutent ou sont en échec thérapeutique. Dans ce cas, en plus de la sensibilité aux antibiotiques de première ligne, il est indispensable d'éprouver la sensibilité aux antibiotiques de seconde ligne [163].

1.10.1.2. L'antibiogramme en milieu liquide

Bien que la méthode des proportions en milieu solide demeure la méthode de référence pour la détermination de la sensibilité aux antituberculeux de première intention, les antibiogrammes sont désormais le plus souvent réalisés en milieu liquide sur l'automate Bactec MGIT 960 ou Versa TREK. Son adaptation à la mesure de la sensibilité aux antituberculeux de second ligne est en cours [227].

L'avantage évident de l'antibiogramme en milieu liquide est le délai de réponse : les résultats sont obtenus en 8 à 10 jours au lieu de 3 à 6 semaines. La concordance des résultats avec ceux de la méthode de référence est bonne, de plus de 90%. Elle est meilleure pour la rifampicine et l'isoniazide que pour la streptomycine et l'éthambutol [147].

Des résultats faussement sensibles responsables d'erreurs majeures, de l'ordre de 1,5 à 2,5 % pour l'isoniazide et la rifampicine et de 5 à 8 % pour la streptomycine et l'éthambutol, sont rapportés. De même, des fausses résistances sont décrites et il est actuellement recommandé de contrôler ces résultats par la méthode de référence des proportions en milieu solide [146].

L'inconvénient de ces systèmes réside dans un pourcentage de contamination plus élevé par rapport aux cultures sur LJ et leur coût élevé qui fait qu'ils soient très peu utilisés dans les pays en voie de développement où la tuberculose est endémique. Pour remédier à cette situation, des techniques «maison» se sont développées dont certaines ont été validées par l'OMS [228].

I.10.1.3. La technique Microscopic observation drug susceptibility (MODS)

Le principe repose sur l'observation microscopique de la croissance de *M. tuberculosis* sous forme de cordes en milieu liquide et en présence des différents antibiotiques à tester. Le test se fait dans des plaques à puits et la lecture utilise un microscope inversé. Cette technique peu coûteuse est surtout utilisée dans les pays en voie de développement où elle permet de détecter rapidement la présence de souche MDR avec une sensibilité et une spécificité respectives de 100 et 94 % [229].

I.10.2. Test de détection géotypique

La détection moléculaire de la résistance à la rifampicine, marqueur de la multirésistance, a été la première à être développée ; cette résistance étant généralement associée à celle de l'isoniazide [139 ;159]. Dans les pays où les moyens de laboratoire sont limités, la détermination de la sensibilité à la rifampicine peut servir de criblage initial. Les souches dont on détermine qu'elles sont résistantes à la rifampicine devront être testées pour évaluer leur résistance à l'isoniazide [230].

Deux techniques sont principalement utilisées pour la recherche moléculaire de la résistance, l'hybridation sur bandelettes et la détermination de la séquence nucléotidique [159]. La première utilise une technique d'amplification génique suivie d'une hybridation inverse sur bandelette. La seconde utilise le principe de la PCR en temps réel [139].

I.10.2.1. Les méthodes d'hybridation sur bandelette(LPA)

L'hybridation sur bandelettes consiste à amplifier un fragment de gène, à le marquer et à l'hybrider sur des sondes fixées sur une bandelette (Figure 62). Les hybrides sont révélés par l'apparition d'une coloration. Parmi ces tests, on cite INNO-LiPA Rif.TB détectant la résistance à la rifampicine, Génotype MTBDR $plus$ détectant en plus la résistance à l'isoniazide et Génotype MTBDR $s/$ détectant la résistance aux antituberculeux de seconde ligne, les fluoroquinolones, les aminoglycosides et l'éthambutol [139 ;159].

INNO-LiPA a une sensibilité supérieure à 93 % et une spécificité de 100 % quand la technique est appliquée sur la culture. Par contre, si la recherche de la résistance à la

rifampicine se fait directement sur le prélèvement, la sensibilité est moindre (80 %) avec une spécificité équivalente [139 ;231].

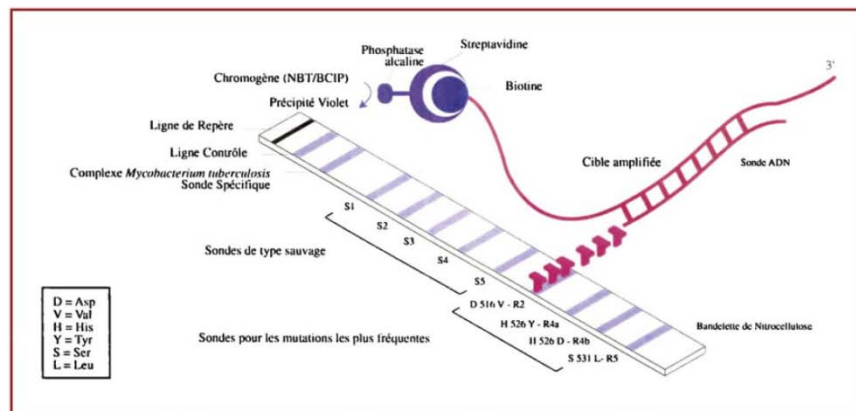


Figure 62: principe de la recherche de mutation dans le gène *rpoB* par hybridation sur bandelette : l'exemple du test INNO-LiPA Rif.TB [159]

Sur la bandelette Génotype MTBDR*plus* sont fixées :

- Des sondes spécifiques des allèles sauvages du gène *rpoB*, de la position 15 du gène *katG* et des positions -8, -15 et -16 du régulateur du gène *inhA* ;
- Des sondes spécifiques des mutations les plus fréquemment en cause dans la résistance à la rifampicine (S₅₃₁L, H₅₂₆Y, H₅₂₆D, et D₅₁₆V de *rpoB*) et à l'isoniazide (deux triplets déterminant la mutation S315T de *katG* et -15C -T, -16A -G, -8T -A de *inhA*).

Avec ce jeu de sondes, il est possible de préciser si les gènes *rpoB*, *katG* et *inhA* sont sauvages ou s'ils sont le siège de mutations aux positions testées. Un signal d'hybridation avec les sondes détectant spécifiquement les mutations. L'absence d'hybridation avec la sonde sauvage sans hybridation avec les sondes des mutations les plus fréquentes révèle la présence de mutations plus rares dont l'identification précise ne pourra être obtenue que par séquençage du gène concerné (figure63).

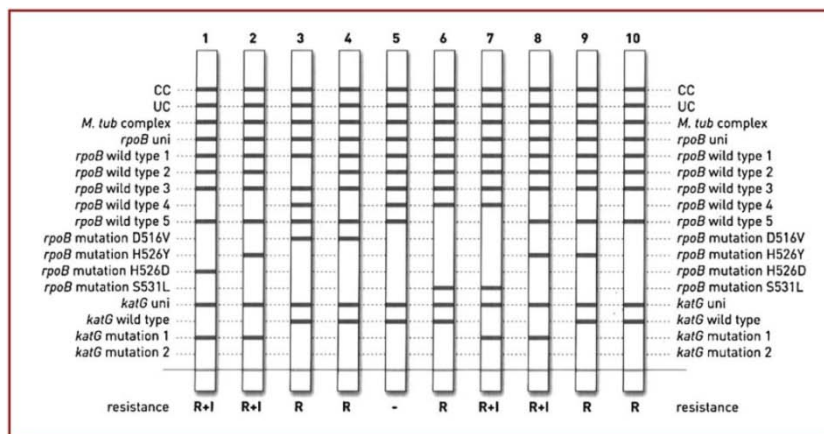


Figure 63: exemples de résultats de la recherche de mutation dans les gènes *rpoB* et *katG* par hybridation sur bandelette GenoType MTBDRplus [159]

La première génération de test GenoType MTBDR*plus* 1.0 permet en quelques heures et en un seul test de détecter le complexe *tuberculosis* ainsi que le statut de la résistance à la rifampicine et l'isoniazide, soit à partir d'échantillons avec examen direct positif, ou soit à partir de cultures positives [232]. Dans les deux cas, la sensibilité est supérieure à 95 % pour la rifampicine et la spécificité est de 99 à 100 %. Pour l'isoniazide, la sensibilité est moindre et varie selon les études entre 73 et 92 % [233].

Depuis peu, les prélèvements pulmonaires non bacillifères peuvent être analysés par la nouvelle génération de test GenoType MTBDR*plus* 2.0. L'étude de Crudu et al. en zone de moyenne endémie montre une sensibilité de 79,8 % pour la détection du complexe *tuberculosis* ainsi qu'une sensibilité de la détection de la résistance de 90 % pour la rifampicine et de 93,5 % pour l'isoniazide [234].

La bandelette Génotype MTBDR*s*, a été mise sur le marché en 2009, elle apporte une aide au dépistage des XDR-TB. Les sensibilités et spécificités moyennes de ces différentes études sont respectivement de 87,4 % et 97,1 % pour les FQ, 82,6 % et 99,5 % pour l'amikacine, 82 % et 97,3 % pour la capréomycine, 44,4 % et 99 % pour la kanamycine et 68 % et 80 % pour l'éthambutol [235]. Ces bandelettes permettent une bonne détection de la résistance aux FQ, à l'amikacine et à la capréomycine, par contre, elles ne semblent pas appropriées pour la mise en évidence de la résistance à la kanamycine et à l'éthambutol. Les

valeurs élevées de la spécificité rendent ce test utile au dépistage des isolats XDR-TB [236,237].

➤ Test Xpert MTB/RIF®:

Le test Xpert MTB / RIF est un test de diagnostic in vitro de PCR testé en temps réel pour la détection d'ADN du complexe *Mycobacterium tuberculosis* dans des sécrétions brutes ou des sédiments concentrés. Dans les spécimens où le complexe *Mycobacterium tuberculosis* (complexe MTB) est détecté, le test Xpert MTB / RIF détecte également les mutations associées à la résistance à la rifampicine du gène *rpoB*. Ce test est premièrement recommandé par l'OMS en 2010 et approuvé par la FDA en 2013. Au début, il n'a été validé que pour les échantillons pulmonaires, mais en 2013, l'OMS a élargi les recommandations pour l'utilisation de ce test pour inclure plusieurs autres matrices, avec un traitement approprié des échantillons – LCR, biopsie pleurale, tissu lymphatique et aspiration gastrique Chez les enfants [195 ;238].

Trente pour cent (30%) des souches de TB-MDR en Suisse ont une résistance à la rifampicine qui se trouve en dehors des régions du gène *rpoB* détectées par Xpert® [239]. Cette technique reste donc moins sensible que l'antibiogramme, qui reste la méthode de référence pour déterminer la sensibilité du *M.tuberculosis* aux antituberculeux.

II. DISCUSSION DE NOS RESULTATS

II.1. Prévalence de la résistance de *M.tuberculosis* à la rifampicine

La prévalence de la tuberculose résistante à la rifampicine varie d'un pays à l'autre et dans le même pays d'une région à une autre. Selon l'OMS, 45 % du total de 580 000 cas de TB-RR sont concentrés en Inde, en Chine et en Russie [1]. Au Maroc, 238 cas de tuberculose résistante ont été déclarés en 2016 [2].

La proportion de la résistance du *M. tuberculosis* à la RIF dans notre étude était de 10.5%, ce qui est similaire aux études récentes menées en Ethiopie [240], au Nigeria [241] et en Inde [242]. Cette prévalence demeure plus élevée que dans les études observées aux États-Unis [243], en Ouganda [244] et au nord-ouest d'Ethiopie [245]. En revanche, cette proportion

reste inférieure aux rapports de la Mozambique [246] et du nord ouest de l'Inde [247]. Cette variation pourrait être expliquée par le recours à la rifampicine dans des indications autre que la tuberculose, ainsi qu'à la différence des programmes nationaux de lutte antituberculeuse.

D'autre part, des études phénotypiques réalisées en utilisant des tests de sensibilités aux médicaments (DST) (sur milieu de Lowenstein-Jensen) ont enregistré des fréquences qui varient de 3.9% à 32.5% [248–255] (tableau 11).

La prévalence constatée dans notre série est faible, comparativement aux données de l'OMS concernant la fréquence de la résistance à la rifampicine au Maroc qui est estimée à 15% en 2015 [256]. Cela peut être expliqué par l'incapacité des techniques utilisées dans notre étude à détecter la résistance à la RIF provoquée par des mutations autres que celles de la région RRDR, ce qui sous estime notre prévalence.

La résistance à la RIF est souvent considérée comme un marqueur de substitution ou une vérification de la TB-MR [216,217]. Cette hypothèse n'est pas confortée par notre étude, dans la mesure où 20% des échantillons résistants à la RIF ne sont pas des MDR.

Tableau XI: Comparaison de nos résultats avec des études internationales

Auteurs	Année	Type d'étude	Zone d'étude	Proportion de la résistance du <i>M.tuberculosis</i> à la Rif %
Mulu et al [240]	2017	Génotypique	Debre Markos, Ethiopie	10.3%
Nawadioha et al [241]	2014	Génotypique	Benue, Nigeria	13.9%
Chakraborty et al [242]	2016	Génotypique	Kolkata, Inde	11.76%
Mekonnen D et al [257]	2015	Génotypique	Bahir Dar, Ethiopie	40.9%
Singhal et al [247]	2014	Génotypique	Nord-ouest, Inde	63.7%
Namburete et al [246]	2016	Génotypique	Beira, Mozambique	17.4%
Mboowa et al [244]	2014	Génotypique	Kampala, Ouganda	3.5%
CDC [243]	2014	Génotypique	Atlanta, États-Unis	1.3%
Mekonnen F et al [245]	2015	Génotypique	Nord-ouest, Ethiopie	5.6%
Banu et al [248]	2016	Phénotypique	Dhaka, Bangladesh	3.9%
Hamuss et al [249]	2016	Phénotypique	Oramia, Ethiopie	7.5%
Alhajoj et al [250]	2013	Phénotypique	Arabie Saoudite	5.3%
Nhung et al [251]	2015	Phénotypique	Hanoi, Vietnam	6.7%
Yang et al [252]	2014	Phénotypique	Nord-est de la Chine	11.2%
Saif Alfaresi et al [253]	2010	Phénotypique	Abu Dhabi, UAE	32.5%
ECDC [254]	2015	Phénotypique	Europe	4.1%
Fregona G et al. [255]	2017	Phénotypique	Vitória, Brésil	5.7%
WHO [258]	2016	Indéfinie	Russie	31%
WHO [259]	2016	Indéfinie	Roumanie	64%
Notre étude	2017	Génotypique	Marrakech, Maroc	10.5%

II.2. Sexe

Dans notre étude, la majorité des patients étaient des hommes (60%), ce qui est concordant avec les études réalisées en Afrique [240], en Europe [260], en Moyen-Orient [250 ; 253], et en Asie [261,262]. Cela peut être dû à la différence de comportement social et à l'exposition importante des hommes à l'environnement extérieur, au tabagisme et à l'alcoolisme. Cependant, au Nigeria [241] et en Iran [263], on constate que les femmes sont plus touchées par la tuberculose résistante à la rifampicine (tableau 12).

Tableau XII: Répartition selon le sexe d'après des études internationales

Auteur	Année	Zone d'étude	Genre	Pourcentage
Mulu et al [240]	2017	Debre Markos,Ethiopia	H	66.6%
Van der werf et al [260]	2012	Europe	H	74.4%
Alhajoj et al [250]	2013	Arabie Saoudite	H	41%
Luo et al [261]	2017	Guanxi, la Chine	H	77.1%
Rahman et al [262]	2017	Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan	H	66.7%
Fregona G et al. [255]	2017	Vitória, Brésil	H	76%
Nawadioha et al [241]	2014	Benue, Nigeria	F	54.7%
Farazi et al [263]	2013	Province centrale, Iran	F	66.6%
Notre étude	2017	Marrakech, Maroc	H	60%

II.3. Age

Les groupes d'âge les plus touchés par la tuberculose résistante à la rifampicine dans notre série étaient de 46 à 60 ans (33.3%) et de 16 à 30 ans (26.6%). Nos résultats concordent avec ceux obtenus par des études menées en Ethiopie [240], en Iran [263] et en Chine [261]. Par contre les études réalisées au Nigeria, au Pakistan [262], en Inde [247] et en Europe [260] ont trouvé que la tranche d'âge de 21 à 40 ans était la plus touchée (tableau 13). Cela est expliqué par l'exposition importante à l'environnement extérieur et à la charge de travail élevée, dans des conditions favorisant l'infection et la non observance du traitement.

Tableau XIII: Tranche d'âge la plus fréquente selon des études internationales

Auteur	Année	Zone d'étude	Tranche d'âge	Pourcentage
Mulu et al [240]	2017	Debre Markos, Ethiopia	[41-60]	41.6%
Farazi et al [263]	2013	Province centrale, Iran	>45	57.1%
Luo et al [261]	2017	Guanxi, la Chine	[40-59]	47.17%
Nawadioha et al [241]	2014	Benue, Nigeria	[21-40]	71.3%
Rahman et al [262]	2017	Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan	[21-40]	61.1%
Van der werf et al [260]	2012	Europe	[21-40]	43.6%
Fregona G et al. [255]	2017	Vitória, Brésil	[20-39]	48%
Notre étude	2017	Marrakech, Maroc	[46-60]	33.3%

II.4. Lieu de résidence

Dans notre série 80% des patients atteints de tuberculose résistante à la rifampicine résident en milieu urbain, même résultat retrouvé à la région d'Oromie en Ethiopie [249]. Ces résultats concordent à ce qui est constaté en Iran [263] et en Bangladesh [248]. Cependant, en d'autre région d'Ethiopie [240 ; 245], la résistance à la rifampicine touche plus les patients qui habitent en milieu rural (tableau 14). Cela peut être dû à la difficulté de l'accès aux soins en milieu rural.

Tableau XIV: Lieu de résidence des patients atteint de tuberculose résistante à la rifampicine selon les auteurs

Auteur	Année	Zone d'étude	Lieu de résidence	Pourcentage
Hamuss et al [249]	2016	Oramia, Ethiopia	Milieu urbain	80%
Farazi et al [263]	2013	Province centrale, Iran	Milieu urbain	89%
Banu et al [248]	2016	Dhaka, Bangladesh	Milieu urbain	57.4%
Mulu et al [240]	2017	Debre Markos, Ethiopia	Milieu rural	58.3%
Mekonnen F et al [245]	2015	Nord-ouest, Ethiopie	Milieu rural	57.1%
Notre étude	2017	Marrakech, Maroc	Milieu urbain	80%

II.5. Antériorité de traitement anti-bacillaire

Dans notre étude, la proportion de *M. tuberculosis* résistant à la rifampicine est significativement plus élevée chez les patients précédemment traités (93.3%) que chez les nouveaux cas (6.7%). Cette proportion concorde avec les résultats retrouvés en chine [261], au Pakistan [262], à la région de Jijiga en Ethiopie [264], en Mozambique [246] et en Nigeria [241]. Par contre, dans l'étude réalisée en Bangladesh [248], on constate que les nouveaux cas sont plus touchés par la tuberculose résistante à la rifampicine. Alors qu'au Vietnam [251], il n'y a pas de différence entre les deux groupes de patients (tableau 15).

Tableau XV: Comparaison de nos résultats avec des études internationales

Auteur	Année	Zone d'étude	Antérieurement traités	Nouveau cas
Mulu et al [240]	2017	Debre Markos, Ethiopia	58,3%	47,%
Mekonnen F et al [245]	2015	Nord-ouest, Ethiopie	7,4%	28,6%
Brhan et al [264]	2017	Jiggiga, Ethiopie	70%	30%
Namburete et al [246]	2016	Beira, Mozambique	77.8%	22.2%
Rahman et al [262]	2017	Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan	83,3%	16.7%
Banu et al [248]	2016	Dhaka, Bangladesh	31.1%	68.9%
Hamuss et al [249]	2016	Oramia, Ethiopia	50%	50%
Luo et al [261]	2017	Guanxi, la Chine	73.7%	26.3%
Nhung et al [251]	2015	Hanoi, Vietnam	50%	50%
Notre étude	2017	Marrakech, Maroc	93.3%	6.7%

Dans la littérature, il est admis que le traitement antérieur de la tuberculose est un facteur de risque important à développer la résistance aux antibacillaires. Nos résultats ont montré que ce risque est multiplié par 8 chez les patients antérieurement traités. Cela s'explique par l'augmentation du contact avec les médicaments antituberculeux. Une étude menée dans onze pays a montré que plus le temps d'exposition aux antituberculeux est long, plus le risque d'apparition de la résistance est grand [265–267].

II.6. Site d'infection

Dans notre étude, on a enregistré un seul cas (6.7%) de tuberculose résistante à la rifampicine à localisation extrapulmonaire. Cette proportion est inférieure que celle retrouvée en Ethiopie [240] et en Inde [242] (tableau 16). Cela démontre que la tuberculose pulmonaire

résistante à la rifampicine est un problème de santé majeur dans des contextes à ressources limitées.

Tableau XVI: localisation de tuberculose résistante à la RIF selon les auteurs

Auteur	Année	Zone d'étude	TPM	TEP
Mulu et al [240]	2017	Debre Markos, Ethiopie	50%	50%
Chakraborty et al [242]	2016	Kolkata, Inde	66.7%	33.3%
Notre étude	2017	Marrakech, Maroc	93.3%	6.7%

II.7. VIH

Dans notre série, la co-infection VIH-tuberculose était de 6.7%, un résultat supérieur à celui enregistré en Iran (2.7%) [263]. En outre, les études réalisées en Ethiopie [240] et au Mozambique [246] objectivent des proportions plus élevées (tableau 17). Cela peut être expliqué par la prévalence élevée de l'infection à VIH dans ces pays. Cependant, dans la présente étude, il y a eu un manque d'association entre l'infection par le VIH et le développement de la tuberculose résistante à la rifampicine. Cela est similaire aux résultats d'études antérieures en Ethiopie [240], en Mozambique [246], en Tanzanie [269] et au Brésil [270].

Tableau XVII: proportion de la co-infection de la tuberculose résistante à la RIF et le VIH

Auteur	Année	Zone d'étude	Co-infection tuberculose-VIH
Farazi et al [263]	2013	Province centrale, Iran	2.7%
Mulu et al [240]	2017	Debre Markos, Ethiopie	28.6%
Namburete et al [246]	2016	Beira, Mozambique	25%
Alhajoj et al [250]	2013	Arabie Saoudite	5.9%
Notre étude	2017	Marrakech, Maroc	6.7%

II.8. Tabac

Dans notre série, on n'a pas pu prouver l'association entre la tuberculose résistante à la rifampicine et le tabagisme, même résultat trouvé dans les études de Banu et al. [248] et Mekonnen et al. [245]. Alors que Brhan et al. [264] ont affirmé cette relation (tableau 18).

Tableau XVIII: Proportion des tabagiques atteints de tuberculose résistante à la RIF

Auteur	Année	Zone d'étude	Tabagisme %
Banu et al [248]	2016	Dhaka, Bangladesh	39.3%
Mekonnen F et al [245]	2015	Nord-ouest, Ethiopie	28.5%
Brhan et al [264]	2017	Jigjiga, Ethiopie	35%
Notre étude	2017	Marrakech, Maroc	20%

II.9. Sensibilité des techniques

La culture reste la méthode de référence pour le diagnostic de la tuberculose. Ces dernières années, des systèmes de culture automatisés se sont développés, permettant un temps de détection de la croissance des espèces mycobactériennes raccourci de manière significative. Cependant, des retards de diagnostic peuvent subsister. Des tests moléculaires rapides ont ainsi été développés et approuvés par l'OMS pour résoudre ce problème. Néanmoins, ces tests peuvent entraîner de faux résultats négatifs et de faux positifs.

Sur les 152 prélèvements, les tests moléculaires ont permis la détection de 143 souches de *M. tuberculosis*. Ce qui définit une sensibilité de 94%. Ce résultat est semblable à l'étude de Parcell BJ, et al. [271], qui a révélé une sensibilité de 95.8%. Cela est relativement inférieur aux études menées par Saeed M, et al. [272] et Dharan NJ et al. [273] qui ont objectivé une sensibilité de 97.5% et 99.7% respectivement. Une étude menée en Allemagne [274], a trouvé une sensibilité de 88.5%, inférieure à nos résultats (tableau 19). Par ailleurs, une étude récente impliquant le Xpert MTB / RIF au Canada a révélé une sensibilité de 46% pour la détection de MTB à partir des échantillons de crachats induits. Les auteurs ont conclu que la maladie pauci bacillaire et la dilution de l'échantillon dans le processus d'induction de l'expectoration peut être responsable de cette faible sensibilité [275].

Tableau XIX: Sensibilité de l'identification du *Mycobacterium tuberculosis* par l'étude moléculaire

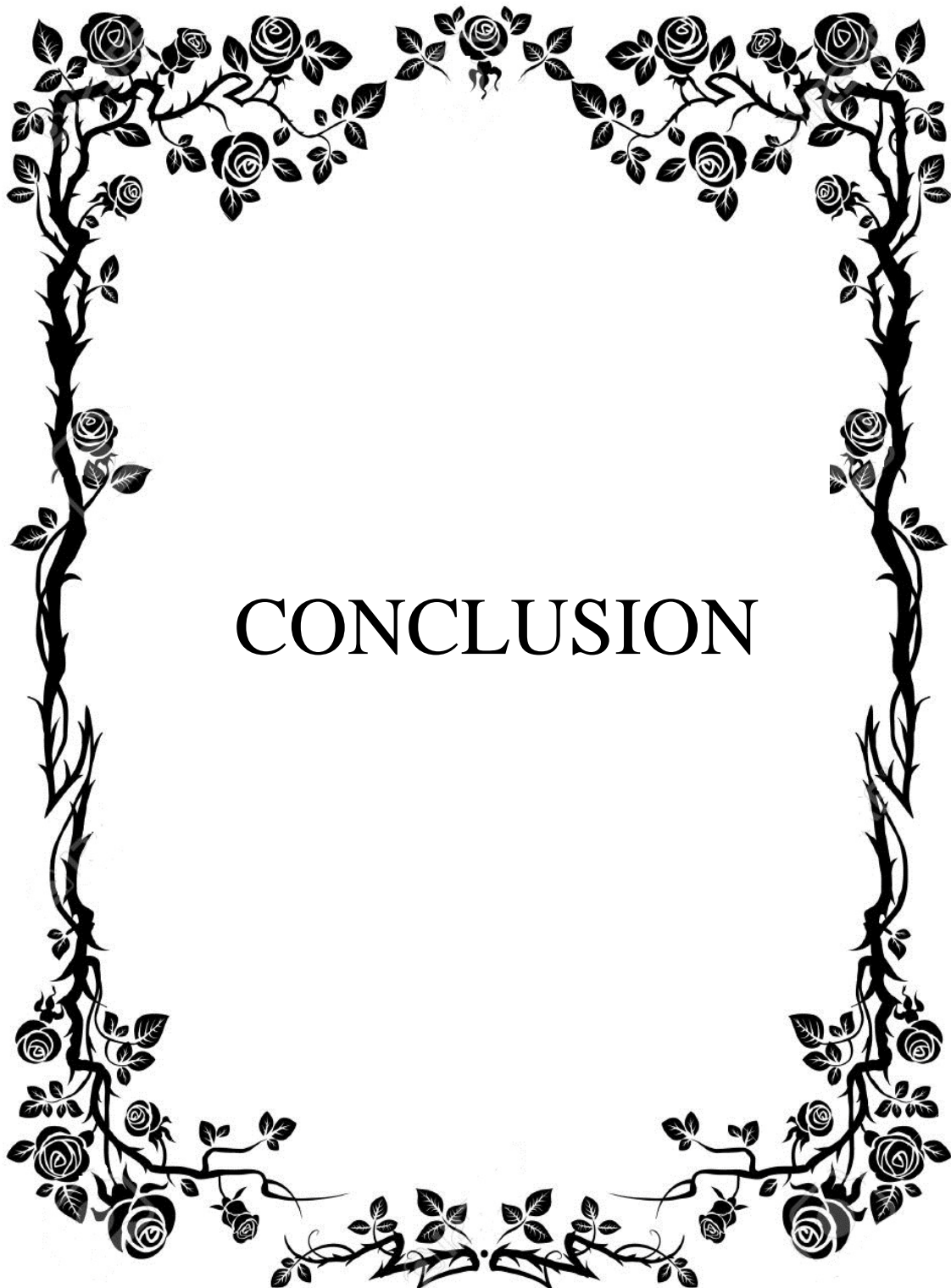
Auteur	Année	Sensibilité %
Parcell BJ, et al. [271]	2017	95.8%
Saeed M, et al. [272]	2017	97.5%
Dharan NJ et al. [273]	2016	99.7%
Boheme CC et al. [276]	2010	97.6%
Hofmann–Thiel et al. [274]	2016	88.5%
Ninan et al [277]	2016	81.3%
Sohn H et al. [275]	2014	46%
Notre étude	2017	94%

D'autre part, l'examen direct des prélèvements a objectivé des BAAR dans 122 échantillons, en définissant une sensibilité de 80%. Cela est comparable à l'étude américaine [278], où la sensibilité de l'examen direct atteint 92%. Les auteurs ont expliqué ce résultat élevé par l'utilisation de plus ou moins 5 ml de volume d'expectoration. Par contre d'autres études ont constaté une sensibilité plus faible que la notre, variant de 57% à 64% [272 ;279] (tableau 20).

Dans notre étude, on constate qu'il y a une prédominance des prélèvements pulmonaires (132 prélèvements), ce qui peut expliquer la forte sensibilité de l'examen direct relevée dans nos résultats.

Tableau XX: Sensibilité de l'examen direct dans la détection de *Mycobacterium tuberculosis*

Auteur	Année	Sensibilité %
Warren JR, et al. [278]	2000	92%
Davis JL, et al. [279]	2013	64%
Saeed M, et al. [272]	2017	57%
Notre étude	2017	80%



L'émergence et la propagation des souches multi-résistantes (MDR) et des souches ultra-résistantes (XDR) aux antituberculeux associés à la pandémie du VIH/sida, constitue un véritable problème de santé publique mondial [192].

Selon notre étude, la prévalence de la tuberculose résistante à la rifampicine a été estimée à 10,5 % et demeure élevée par rapport à celle rapportée aux pays développés, où elle ne dépasse pas 5%. Cette situation pourrait menacer les efforts nationaux des activités de lutte contre la tuberculose et aggraver encore le développement de la tuberculose multirésistante.

La forte association de la résistance à la rifampicine avec le traitement anti-bacillaire antérieur suggère une meilleure surveillance du traitement pour limiter l'émergence de *M. tuberculosis* résistant aux médicaments.

Par ailleurs, cette étude met l'accent sur la grande sensibilité de l'étude moléculaire pour la détection du complexe *Mycobactérium tuberculosis*. Par conséquent, l'utilisation de l'étude moléculaire devrait être étendue à travers le pays pour un diagnostic rapide, une gestion et une surveillance accrue de la tuberculose résistante à la Rif.

Il est important de rappeler que notre étude insiste sur l'importance de tester la sensibilité du MTB à l'INH avant de le considérer comme MDR, pour améliorer le protocole de traitement.



En réalisant notre étude nous avons remarqué :

- Une prévalence élevée de la résistance du MTB à la rifampicine.
- Une forte association de la résistance du MTB à la rifampicine avec le traitement anti-bacillaire antérieur.

Ainsi, nous recommandons :

- La mise en place de tests rapides d'identification moléculaire sur tout le pays.
- Le dépistage précoce et le diagnostic rapide du MTB résistant à la rifampicine par étude moléculaire.
- Le dépistage et la surveillance de la résistance à la rifampicine doivent cibler en priorité les malades antérieurement traités.
- La recherche des mutations de résistance en développant des techniques moléculaires capables de les détecter.
- La mise en place du test de la sensibilité aux antibiotiques de 2^{ème} intention pour toute souche de MTB résistante à la rifampicine.
- La création de centre de référence de mycobactéries et de registre régionale des souches résistante à la rifampicine.
- L'implication des centres hospitaliers universitaires dans la stratégie nationale de lutte anti-tuberculeuse.
- Le soutien et l'encadrement des patients pour éviter la perte de vue des malades.
- L'optimisation du traitement court du MTB résistant à la rifampicine, pour une bonne observance de traitement et moins d'effets indésirables.



Résumé

La tuberculose (TB) constitue un problème majeur de santé publique mondial. Son contrôle est devenu de plus en plus compliqué suite à l'émergence de souches résistantes à la rifampicine, voire des souches multirésistantes et ultrarésistantes. L'objectif de ce travail est d'identifier par étude moléculaire les cas de résistance des souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis* à la rifampicine isolées dans la région de Marrakech, l'identification des principaux facteurs de risques associés à cette résistance, ainsi que d'évaluer la sensibilité de l'étude moléculaire et de l'examen direct par rapport à la culture.

Il s'agit d'une étude prospective, menée du 1^{er} janvier 2015 au 28 février 2017, réalisée sur 152 prélèvements émanant de patients ayant consulté à l'hôpital militaire Avicenne, à l'hôpital Arrazi et au centre diagnostic de tuberculose et des maladies respiratoires.

L'identification des souches et leur sensibilité à la rifampicine ont été effectuées par étude moléculaire en utilisant la technique de PCR en temps réel sur Xpert MTB/RIF et la technique d'hybridation inverse sur MTBDRplus.

Afin de ressortir les facteurs de risque de résistance du MTB à la rifampicine, nous avons étudié et comparé les paramètres démographiques, clinico-biologiques, chez deux groupes de patients : Patients avec tuberculose résistante à la RIF et ceux avec tuberculose sensible à la RIF. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS statistics 17.0.

L'âge moyen de nos patients était de 39,7 ans avec des extrêmes allant de 4 à 82 ans, avec une prédominance masculine et un sexe-ratio de 3,47. A la lumière de l'étude moléculaire, 9 souches étaient des MNT et sur les 143 cas confirmés MTB, 15 étaient résistants à la rifampicine, soit une prévalence de 10.5%.

Par rapport à la culture, la sensibilité de l'étude moléculaire était de 94%, alors que l'examen direct avait une sensibilité de 80%.

Il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes pour l'âge, le sexe, le lieu de résidence, le niveau socioéconomique, le statut VIH, le tabagisme et la localisation de la tuberculose. Par contre, le traitement anti-bacillaire antérieur est significativement plus important dans le groupe des patients avec tuberculose résistante à la rifampicine ($p < 0.001$).

La prévalence de la résistance du MTB à la rifampicine (10,5%) est relativement élevée, menaçant les efforts de lutte contre la tuberculose menés à l'échelle nationale et aggravant encore le développement de la tuberculose multirésistante. L'antécédent de traitement antérieur semble représenter un facteur favorisant. Une meilleure surveillance du traitement, et un test rapide de la sensibilité peuvent limiter l'émergence de souches résistantes à la rifampicine.

Abstract

Tuberculosis constitutes still nowadays a main public health problem. Its control has become more and more complicated because of emerging rifampicin-resistant strains, or even multidrug and extensively drug-resistance. This survey aims to identify by molecular study rifampicin-resistance of MTB in the region of Marrakech, identification of significant risk factors of this resistance, as well as the evaluation of the sensitivity of the molecular study and smear microscopy related to culture.

This is a prospective survey conducted from the 1st of January 2015 to the 28th of February 2017, on 152 samples from patients who consulted the Avicenne military hospital, Arrazi hospital, and diagnostic center for tuberculosis and respiratory diseases.

The identification of the strains and rifampicin susceptibility test were done by molecular study using in real time PCR on Xpert MTB/RIF and line probe assay on MTBDRplus.

So as to find the MTB rifampicin-resistance risk factors, we have studied and compared demographic parameters, clinical and biological characters inside two groups of patients: those rifampicin-resistance tuberculosis and those tuberculosis susceptible to rifampicine. Statistics analysis conducted using SPSS statistics 17.0 software program.

The mean age of our patient was 39.7 years, ranging from 4 to 82, with male predominance and a sex-ratio of 3.47. Based on molecular study 9 strains were MNT and 15 of the 143 confirmed cases of MTB were resistant to rifampicin (10.5%).

Rifampicin-resistance tuberculosis was observed among 14 previously treated patients, besides a naïve treated case and another extrapulmonary tuberculous patient.

Related to culture, the sensitivity of the molecular study was of 94% where as the smear microscopie was of 80%.

There is no significant difference between the two groups due to age, sex, residence, economic status, VIH status, smoking, and the site of tuberculosis. However, the history of

previous treatment were more important among the group of patients with rifampicin-resistance ($p < 0.001$).

The prevalence of the MTB rifampicin-resistance (10.5%) is relatively high and is threatening the national struggling efforts against tuberculosis and aggravating the spread of multidrug-resistance. The history of pretreatment seems to be a favoring factor. A better look out of the treatment and a quick test of the susceptibility may restrict the emergence of risk resistance strains.

ملخص

لا يزال السل يشكل في الوقت الحالي تحديا كبيرا للصحة العامة. و قد أصبحت السيطرة عليه أكثر تعقيدا بسبب ظهور سلالات مقاومة للريفامبيسين، أو حتى متعددة و فائقة المقاومة للأدوية. يهدف هذا البحث إلى التعرف من خلال دراسة جزيئية عن حالات مقاومة الريفامبيسين لدى مركب المتفطرات السلية في جهة مراكش و تحديد أهم العوامل المساعدة على هذه المقاومة، فضلا عن تقييم حساسية الدراسة الجزيئية و التحليل المجهرى بالمقارنة مع الزراعة.

يتعلق الأمر بدراسة استقبالية، أجريت بين فاتح يناير 2015 و 28 فبراير 2017، همت 152 عينة للمرضى اللذين راجعوا المستشفى العسكري ابن سينا، مستشفى الرازي و مركز تشخيص السل و امراض الرئة.

لقد تم التعرف على السلالات و إجراء اختبار مقاومة الريفامبيسين بواسطة الدراسة الجزيئية وذلك باستخدام تقنية

Xpert MTB/RIF و تقنية التهجين العكسي MTBDRplus

ومن اجل إبراز العوامل المساعدة على مقاومة الريفامبيسين، قمنا بدراسة و مقارنة العوامل الديموغرافية، السريرية و البيولوجية لدى مجموعتين من المرضى: المصابين و غير المصابين بالسل المقاوم للريفامبيسين. و قد تمت المعالجة الإحصائية باعتماد برنامج SPSS Statistics 17.0

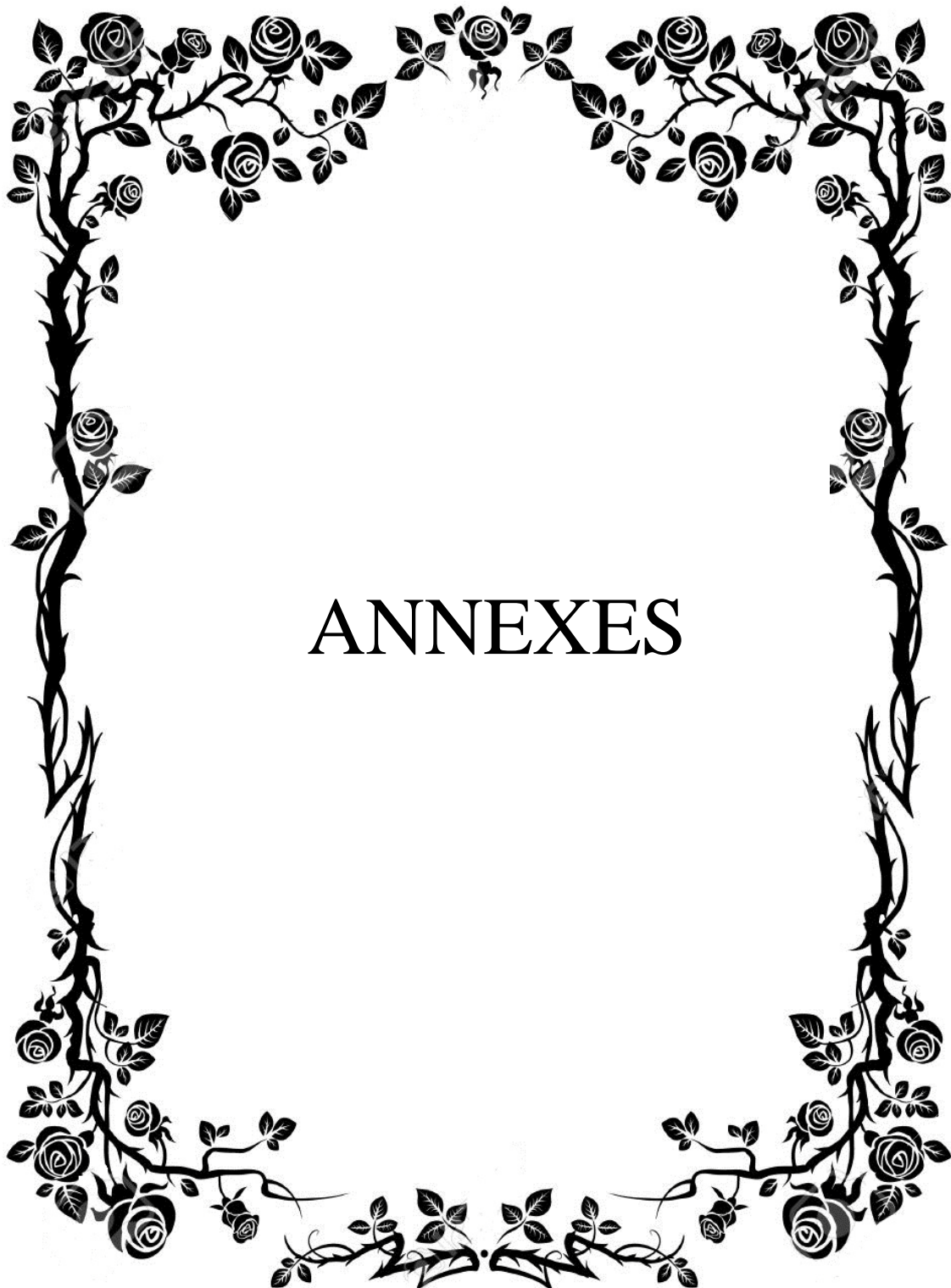
تتراوح أعمار المرضى بين 4 و 82 سنة مع متوسط عمري يبلغ 39.7 سنة وبتفوق ذكوري بمعدل جنسي يعادل 3.4. استنادا للدراسة الجزيئية، تبين ان 9 سلالات لم تكن تنتمي للمتفطرات السلية و 15 سلالة من المتفطرات السلية المؤكدة كانت مقاومة للريفامبيسين.

و قد لوحظ السل المقاوم للريفامبيسين لدى 14 مريضا سبق علاجه، كما تم العثور على حالة للسل المقاوم خارج الرئة.

بلغت حساسية الدراسة الجزيئية 94 مقارنة بالزراعة، بينما بلغت حساسية التحليل المجهرى 80.

لقد تبين انه لا يوجد هناك أي فرق محسوس بين المجموعتين فيما يتعلق بالسن، الجنس، الإقامة، الحالة الاقتصادية، الإصابة بفيروس فقدان المناعة المكتسبة، التدخين و موقع التعفن. بينما اتضح أن أخذ العلاج سابقا عامل أساسي في تطور مقاومة المتفطرات السلية للريفامبيسين.

إن نسبة انتشار داء السل المقاوم للريفامبيسين (10.5) مرتفعة نسبيا، مما يهدد الجهود الوطنية لمكافحة السل و تفاقم انتشار داء السل المقاوم للأدوية. كما يبدو أن أخذ العلاج سابقا هو عامل مساعد في تشكل المقاومة لذا المتفطرات السلية.لذا فمراقبة العلاج و الاختبار السريع للمقاومة قد يحدون من ظهور السلالات المقاومة للريفامبيسين.



Fiche d'exploitation

NOM, Prénom :		Service :	BE :	date d'entrée	
Sexe :		Age :	Lieu de résidence :		
ATCD	Personnels	ATCD de Tuberculose	Pulmonaire	oui	non
			Extra pulmonaire	oui	non
			Laquelle		
		Notion De Contage 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					
bactériologie	Nature du Prélèvement				
	EXD		positive	négative	
	Culture		positive	négative	
Traitement	Régime prescrit et posologie				
	Durée				
Evolution de la maladie	Guérison.				
	rechute				
	Perdu de vue				
	décés				

Kit de coloration à froid



PROTOCOLE DE COLORATION

Protocole n° 86

Kit Quick-TB (Réf. : 361560-0000)

Kit de coloration à froid pour la détection des mycobactéries

Principe :

Le kit Quick-TB utilise une coloration de Ziehl-Armand, variante de la technique de Ziehl-Neelsen, qui permet une détection des mycobactéries ou Bacilles Acido-Alcoolo-Résistants (B.A.A.R.) dont la structure très particulière de la paroi rend difficile la pénétration d'agents décolorants. Cette propriété permet aux B.A.A.R. de conserver la coloration par la Fuchsin phéniquée RAL. L'utilisation du Colorant d'Armand permet de réaliser simultanément la décoloration et contre-coloration de toutes les bactéries non acido-alcoolo-résistantes, des éléments cellulaires et du fond de la préparation. Dans cette technique de coloration rapide à froid, le temps de contact avec la Fuchsin phéniquée RAL est réduit.

Description du kit :

Fuchsin phéniquée RAL	1 x 125 mL
Colorant d'Armand	1 x 125 mL

Le coffret permet de réaliser environ 125 à 200 lames.
Temps de réalisation : 6 minutes.

Recharges disponibles :

Fuchsin phéniquée RAL Réf. 365240-	0125, 1000 mL
Colorant d'Armand Réf. 360100-	0125, 0500 ou 1000 mL

Préparation des échantillons :

Les échantillons doivent être préparés conformément aux méthodes en vigueur dans le laboratoire, en l'application de l'Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, J.O. n°287 du 11 décembre 1999.
Il est nécessaire de réaliser une fixation préalable à la chaleur et/ou à l'alcool à chaud. (cf. Note 01 : Fixation des frottis bactériens pour la détection des mycobactéries)

Mode opératoire :

Veillez lire attentivement l'intégralité des informations qui suivent avant d'utiliser le produit.

- Placer le frottis fixé sur le support de coloration.
- Recouvrir la lame avec la Fuchsin phéniquée RAL (flacon ❶) pendant 5 minutes.
- Rejeter le colorant et rincer à l'eau courante.
- Recouvrir la lame avec le Colorant d'Armand (flacon ❷) pendant 1 minute.
- Rincer brièvement à l'eau courante et laisser sécher le frottis.
- Lecture au microscope, objectif x100 à immersion.

Résultats :

B.A.A.R. : rose.

Fond de la préparation : bleu.

Recommandations et/ou notes d'utilisation :

Produit destiné à un usage exclusivement professionnel pour le Diagnostic in vitro. L'enlèvement et le traitement des déchets chimiques et biologiques doivent être effectués par une entreprise spécialisée et agréée.

Température de stockage : 15 – 25 °C.

En fonction de l'épaisseur du frottis, il peut être nécessaire d'augmenter le temps de la Fuchsin phéniquée RAL.

Afin de réaliser un screening des échantillons de prélèvements, il est conseillé d'utiliser au préalable une technique de fluorescence à l'auramine.

La constatation d'un seul bacille sur toute la lame laisse planer un doute et doit toujours entraîner la répétition de l'examen microscopique sur un autre prélèvement.

Dans tous les cas, la réponse du bactériologiste devra toujours faire référence au nombre de champs observés et être, par conséquent, exprimée sous forme de « absence de BAAR sur 200 (ou 100) champs microscopiques » et non sous forme de « bacilloscopie négative ».

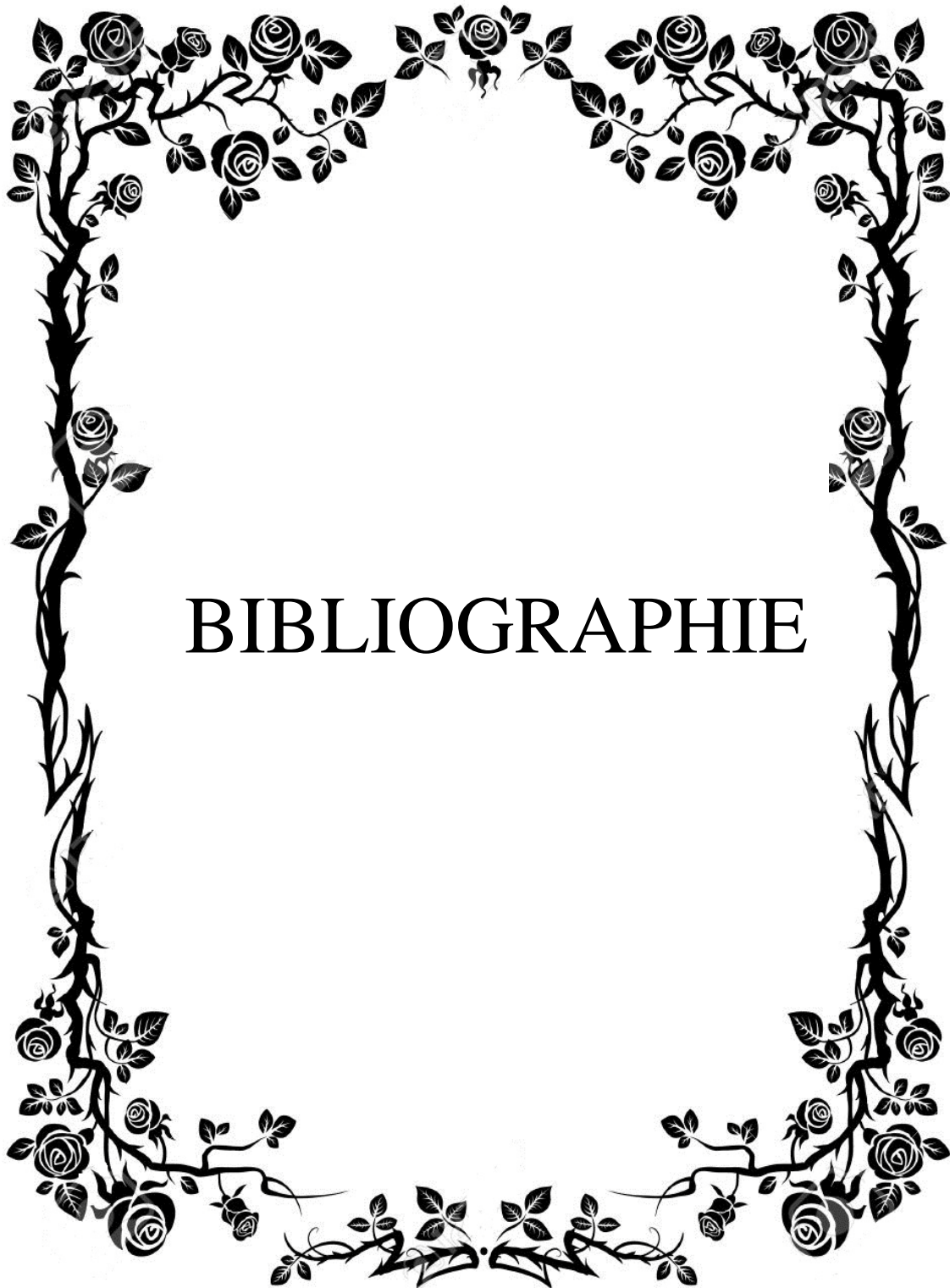
La réponse « bacilloscopie positive » est également une mauvaise réponse car elle ne renseigne pas sur la richesse relative en bacilles du crachat. Un point essentiel est de donner un résultat quantitatif.

Références Bibliographiques :

AUBERT E., « Cold » Stain for Acid-Fast Bacteria, Canad. J. Public Health, n°41, 1950, p. 31-32.

CLARK G., *Staining Procedures*, Williams & Wilkins, 4^{ème} éd., 1981, p. 384-385.





1. **World Health Organization.**
Global Tuberculosis Report, 2016.
Disponible sur: (http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/) (consulté le 20.10.2016)
2. **Ministère de la sante, Royaume du Maroc.**
Lutte Antituberculeuse au Maroc : progrès, défis et perspectives, 2016.
Disponible sur: (<http://www.sante.gov.ma/pages/actualites.aspx?IDActu=215>) (consulté le 10.06.2017).
3. **Chang K, Lu W, Wang J.**
Rapid and effective diagnosis of tuberculosis and rifampicin resistance with Xpert MTB/RIF assay: a meta-analysis.
Journal of Infection 2012;64.6:580–588.
4. **Foundation for Innovative New Diagnostics.**
Performance of Xpert MTB/RIF version G4 assay, 2011.
Disponible sur :
(<http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/map/findg4cartridge.pdf>.) (consulté le 22.11.2016)
5. **Barnard M, Parsons L, Miotto P, et al.**
Molecular Detection of Drug-Resistance Tuberculosis by Line Probe Assay. Laboratory manual for resource-limited settings.
Geneva, Switzerland. FIND; 2012.
6. **Hain Lifescience GmbH.**
Line Probe Assay; GenoTypeMTBDRplus VER 2.0, Instruction for Use, 2012 [Thesis]. Nehren, Germany: Hain Lifescience GmbH; 2012.
7. **Kappelman, J., Alçiçek, M. C., Kazancı, N., Schultz, M., Özkul, M., et Şen, Ş.**
First Homo erectus from Turkey and implications for migrations into temperate Eurasia.
American Journal of Physical Anthropology, 2008;135(1), 110–116.
8. **ROBERTS, Charlotte A., PFISTER, Luz-Andrea, et MAYS, Simon.**
Letter to the editor: was tuberculosis present in Homo erectus in Turkey?.
American journal of physical anthropology, 2009;139(3), 442–444.
9. **Gerszten, P. C., Gerszten, E., & Allison, M. J.**
Diseases of the spine in South American mummies.
Neurosurgery, 2001; 48(1), 208–213.

10. Nerlich AG., H. Rohrbach, A. Zink.

Paleopathology of ancient Egyptian mummies and skeletons. Investigations on the occurrence and frequency of specific diseases during various time periods in the necropolis of the West.
2002; 23(5): 379–85.

11. Fusegawa, H., Wang, B. H., Sakurai, K., Nagasawa, K., Okauchi, M., & Nagakura, K.

Outbreak of tuberculosis in a 2000-year-old Chinese population. Kansenshogaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases, 2003;77(3), 146–149.

12. Ayvazian LF.

History of tuberculosis.
Lung biology in health and disease. 1993. vol.66 (2p.1/2), pp.1–20.

13. Palfi G., O. Dutour, J. Deak and I. Hutás.

Tuberculosis : Past and Present.
Golden Book Publisher Ltd, *Tuberculosis* Foundation, 1999;605p.

14. Legrand E., I. Filliol, C. Sola, N. Rastogi.

Use of spoligotyping to study the evolution of the direct repeat locus by IS6110 transposition in *Mycobacterium tuberculosis*.
J. Clin. Microbiol. 2001;39: 1595–9.

15. Koch, R., (1882–1982).

The etiology of *tuberculosis*.
The Berliner Klinische Wochenschrift, Volume 19 (1882). Zentralbl. Bakteriologie. Mikrobiologie. Hygiene [A] 251: 287–296.

16. Sakula, A.

Robert Koch: centenary of the discovery of the tubercle bacillus.
Thorax. 1982;37:246–251.

17. Mes histoires timbrées.

Disponible sur: (<http://histoirestimbrees.blogspot.com/2010/12/galerie-danciennes-cartes-postales-de-l.html>). (Consulté le 13.02.2017).

18. Mes histoires timbrées.

Disponible sur: (<http://histoirestimbrees.blogspot.com/2010/08/ben-smim-une-source-un-hopital-et-un.html>). (Consulté le 13.02.2017).

19. Calmette A.

Preventive vaccination against *Tuberculosis* with BCG.
Proc.R. Soc.Med.1931; 24(11): 1481–1490.

20. Waksman SA., WB. Geiger, DM. Reynolds.

Strain Specificity and Production of Antibiotic Substances. ChapterVII: Production of Actinomycin by Different Actinomycetes.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1946;32(5): 117–20.

21. Shinnick TM. And RC. Good.

Mycobacterial taxonomy.
Eur. J. Clin. Microbial. Infect. Dis. 1994 ;13(11) :884–901.

22. Cousins DV, R. Bastida, A. Cataldi, V. Quse, S. Redrobe, S. Dow, et al.

Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp.
Int J Syst Evol Microbiol. 2003 ;Sept; 53(Pt 5): 1305–14.

23. Pfyffer GE., R. Auckenthaler, JDA. van Embeden, D. van Soolingen. 1998.

Mycobacterium canetti, the smooth variant of *M. tuberculosis*, isolated from a Swiss patient exposed in Africa.
Emerg. Infect. Dis. 1998;4: 631–634.

24. Van Soolingen D., T. Hoogenboezem, PE. de Haas, PW. Hermans, MA. Koedam, KS. Teppema, et al.

Anovel pathogenic taxon of the *mycobacterium tuberculosis* complex, Canetti: Characterization of an exceptional isolate from Africa.
Inf. J. Syst. Bacteriol. 1997;47(4): 1236–45.

25. Imaeda T.

Desoxyribonucleic acid relatedness among selected strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium Bovis*, *Mycobacterium BCG*, *Mycobacterium microtii* and *Mycobacterium africanum*.
Int. J. Syst. Bacteriol. 1985;35: 145–50.

26. Cole ST.

Comparative mycobacterial genomics as a tool for drugs target and antigen discovery.
Eur. Respir. J.Suppl. 2002;36: 78s–86s.

27. **Niemann S., S. Rusch-Gerdes, E. Richter, H. Thielen, H. Heykes-Uden, R. Diel.**
Stability of IS6110 restriction fragment length polymorphism patterns of *Mycobacterium tuberculosis* strains in actual chains of transmission.
J. Clin. Microbiol. 2000. 38(7): 2563–7.
28. **Serrano JE., AA. Garrido Contreras, and LL. Vizcaino. 1986.**
Considérations sur la tuberculose chez les animaux de compagnie.
Méd. Mal. Infect. 1986 ;10: 556 –7.
29. **Suzuki Y., T. Matsuba, C. Nakajima.**
Zoonotic aspect of tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*.
Kakkaku. 2010;85(2): 79–86.
30. **Goulding JN., J. Stanley, N.Saunders and C. Arnold.**
Genome–sequence–based fluorescent amplified–fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis*.
J. Clin. Microbiol. 2000;38(3):1121–6.
31. **Palomino, J.C., S.C Leão, V. Ritacco , Barrera L, et al.**
Tuberculosis 2007 from basic science to patient care. Chapter 3: The basics of clinical bacteriology.
TuberculosisTextbook; First edition 2007.
32. **Chauhan A, Madiraju MV, Fol M, et al.**
Mycobacterium tuberculosis cells growing in macrophages are filamentous and deficient in FtsZ rings.
J Bacteriol 2006; 188: 1856–65.
33. **Goren, M. B., and Brennan, P. J.**
Mycobacterial lipids : chemistry and biological activities.
In Tuberculosis,1979;pp. 63–193.
34. **Draper and Daffe.**
Tuberculosis and the Tubercle Bacillus.
2005;261–273.
35. **Zuber, B., Chami, M., Houssin, C., Dubochet, J., Griffiths, G., and Daffe, M.**
Direct visualization of the outer membrane of mycobacteria and corynebacteria in their native state.
J Bacteriol 2008;190, 5672–5680.

36. Hoffmann, C., Leis, A., Niederweis, M., Plitzko, J. M., and Engelhardt, H.
Disclosure of the mycobacterial outer membrane: cryo-electron tomography and vitreous sections reveal the lipid bilayer structure.
Proc Natl Acad Sci U S A 2008;105, 3963–3967.
37. Mahfoud, M., Sukumaran, S., Hulsmann, P., Grieger, K., and Niederweis, M.
Topology of the porin MspA in the outer membrane of *Mycobacterium smegmatis*.
J Biol Chem 2006;281, 5908–5915.
38. Faller, M., Niederweis, M., and Schulz, G. E.
The structure of a mycobacterial outer membrane channel.
Science 2004;303, 1189–1192.
39. Daffé, M., and Draper, P. (1998).
The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity.
Adv Microb Physiol 1998;39, 131–203.
40. Villeneuve, M., Kawai, M., Kanashima, H., Watanabe, M., Minnikin, D. E., and Nakahara, H.
Temperature dependence of the Langmuir monolayer packing of mycolic acids from *Mycobacterium tuberculosis*.
Biochim Biophys Acta 2005;1715, 71–80.
41. Villeneuve, M., Kawai, M., Watanabe, M., Aoyagi, Y., Hitotsuyanagi, Y., Takeya, K., Gouda, H., Hirono, S., Minnikin, D. E., and Nakahara, H.
Conformational behavior of oxygenated mycobacterial mycolic acids from *Mycobacterium bovis* BCG.
Biochim Biophys Acta 2007;1768, 1717–1726.
42. Bloch H, Segal W.
Biochemical differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* grown in vivo and in vitro. J Bacteriol 1956; 72: 132–41.
43. Neyrolles O, Hernandez-Pando R, Pietri-Rouxel F, et al.
Is adipose tissue a place for *Mycobacterium tuberculosis* persistence?
PLoS ONE 2006; 1: e43.
44. Wayne LG.
Microbiology of tubercle bacilli.
Am Rev Respir Dis 1982; 125: 31–41.

45. **Harshey RM, Ramakrishnan T.**
Rate of ribonucleic acid chain growth in *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.
J Bacteriol 1977; 129: 616–22.
46. **Verma A, Sampla AK, Tyagi JS.**
Mycobacterium tuberculosis rrn promoters: differential usage and growth rate–dependent control.
J Bacteriol 1999; 181: 4326–33.
47. **Hampshire T, Soneji S, Bacon J, et al.**
Stationary phase gene expression of *Mycobacterium tuberculosis* following a progressive nutrient depletion: a model for persistent organisms?
Tuberculosis (Edinb) 2004; 84: 228–38.
48. **Kasarov LB, Moat AG.**
Metabolism of nicotinamide adenine dinucleotide in human and bovine strains of *Mycobacterium tuberculosis*.
J Bacteriol 1972; 110: 600–3.
49. **Sohaskey CD.**
Regulation of nitrate reductase activity in *Mycobacterium tuberculosis* by oxygen and nitric oxide.
Microbiology 2005; 151: 3803–10.
50. **Clemens DL, Lee BY, Horwitz MA.**
Purification, characterization, and genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* urease, a potentially critical determinant of host–pathogen interaction.
J Bacteriol 1995; 177: 5644–52.
51. **Sendide K, Deghmane AE, Reyrat JM, Talal A, Hmama Z.**
Mycobacterium bovis BCG urease attenuates major histocompatibility complex class II trafficking to the macrophage cell surface.
Infect Immun 2004; 72: 4200–9.
52. **Lawn SD, Kerkhoff AD, Vogt M, Wood R.**
Diagnostic accuracy of a low–cost, urine antigen, point–of–care screening assay for HIV–associated pulmonary tuberculosis before antiretroviral therapy: a descriptive study.
Lancet Infect Dis 2012; 12: 201–9.
53. **Pereira Arias–Bouda L, Nguyen L, Ho L, et al.**
Development of antigen detection assay for diagnosis of tuberculosis using sputum samples.
J Clin Microbiol 2000; 38: 2278–83.

54. **Boehme C, Molokova E, Minja F, et al.**
Detection of Mycobacterial lipoarabinomannan with an antigen–capture ELISA in unprocessed urine of Tanzanian patients with suspected tuberculosis.
Trans R Soc Trop Med Hyg 2005;99:893–900.
55. **Guillet–Caruba C, V. Martinez, F. Doucet–Populaire.**
Les nouveaux outils de diagnostic microbiologique de la tuberculose maladie.
Rev Med Interne 2014;0248–8663.
56. **Cole ST, Brosch R, Parkhill J, et al.**
Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence.
Nature 1998a; 393: 537–44.
57. **Sreevatsan S, Pan X, Stockbauer KE, et al.**
Restricted structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionarily recent global dissemination.
Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 9869–74.
58. **Naya H, Romero H, Zavala A, Alvarez B, et Musto H.**
Aerobiosis Increases the Genomic Guanine Plus Cytosine Content (GC%) in Prokaryotes.
Journal of Molecular Evolution 2002; 55,3,260–264.
59. **Poulet, S. & Cole ST.**
Repeated DNA sequences in mycobacteria.
Archives of Microbiology 1995b;163 (2); 79–86.
60. **David J Weber. Peter A. Leone. William A. Rutala Neter.**
Précis de médecine interne. Chapitre 103 : tuberculose pulmonaire.
Première édition 2011.
61. **Singh, M., Mynak, M. L., Kumar, L., Mathew, J. L., & Jindal, S. K.**
Prevalence and risk factors for transmission of infection among children in household contact with adults having pulmonary tuberculosis.
Archives of Disease in Childhood, 2005;90(6), 624–628.
62. **Dharmadhikari, A. S., Mphahlele, M., Venter, K., Stoltz, A., Mathebula, R., et al.**
Rapid impact of effective treatment on transmission of multidrug–resistant tuberculosis.
The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2014;18(9), 1019–1025.

63. **Hemskerck, D., Caws, M., Marais, B., Farrar, J.**
Tuberculosis in adults and in children. Chapter 2: pathogenesis.
SpringerBriefs in Public Health 2015;e-book.
64. **Russell D.G. 2007.**
Who puts the tubercle in tuberculosis?
Nat Rev Microbiol.2007;5:39–47.
65. **Dye C., S. Shaele, P. Dolin, V. Pathani, M.C. Raviglione.**
Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence and mortality by country.
JAMA. 1999;282:677–686.
66. **Clark–Curtiss, J.E., S.E. Haydel. 2003.**
Molecular genetics of *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis.
Annu Rev Microbiol. 2003;57:517–549.
67. **Korbel, D.S., B.E. Schneider, U.E. Schaible.**
Innate immunity in tuberculosis: myths and truth.
Microbes Infect. 2008;10:995–1004.
68. **Russell, D. G., Barry, C. E., 3rd, and Flynn, J. L.**
Tuberculosis: what we don't know can, and does, hurt us.
Science 2010;328, 852–856.
69. **Abouda M, et al.**
Prévention de la tuberculose.
Rev Pneumol Clin 2014.
70. **Driver CR, Valway SE, Morgan WM, Onorato IM, Castro KG.**
Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* associated with air travel.
JAMA 1994;272:1031–5.
71. **Perez–Velez CM, Marais BJ.**
Tuberculosis in children.
N Engl J Med 2012;367:348–361.
72. **Huchon G.**
Tuberculose : infection et maladie.
EMC – Pneumologie 2012;9(4):1–22.

- 73. Stead WW, Senner JW, Reddick WT, Lofgren JP.**
Racial differences in susceptibility to infection by *Mycobacterium tuberculosis*.
N Engl J Med 1990;322: 422-7.
- 74. Farmer PE, B. Nizeye, S. Stulac, S. Keshavjee.**
Structural violence and clinical medicine.
PLoS Med. 2006;3 (10): e449.
- 75. Keshavjee S., IY. Gelmanova, AD. Pasechnikov, SP. Mishustin, YG. Andreev, A. Yedilbayev, et al.**
Treating multidrug-resistant tuberculosis in Tomsk, Russia: developing programs that address the linkage between poverty and disease.
Ann. N. Y. Acad. Sci.2008;1136: 1-11.
- 76. Udvardia ZF., RA. Amale, KK. Ajbani and C. Rodrigues.**
Totally drug-resistant tuberculosis in India.
Clin. Infect. Dis. 2012;54(4): 579-81.
- 77. Zumla A., A. George, V. Sharma, N. Herbert and Baroness Masham of Ilton.**
WHO's 2013 global report on tuberculosis: successes, threats, and opportunities.
Lancet. 2013;30;382(9907):1765-7.
- 78. Cegielski P., P. Nunn, EV. Kurbatova, K. Weyer, TL. Dalton, DF. Wares, et al.**
Challenges and controversies in defining totally drug-resistant tuberculosis.
Emerg.Infect. Dis.2012;18(11): e2.
- 79. Toujani S, N. Ben Salah, J. Cherif, M. Mjid, Y.Ouahchy et al.**
La primo-infection et la tuberculose pulmonaire.
Rev Pneumol Clin 2015;0761-8417.
- 80. Afranio Kritski et al.**
Tuberculosis 2007 from basic science to patient care. Chapter 15: Tuberculosis in adults.
First edition 2007.
- 81. Sullivan, J. T., Young, E. F., McCann, J. R., & Braunstein, M.**
The *Mycobacterium tuberculosis* SecA2 system subverts phagosome maturation to promote growth in macrophages.
Infection and Immunity, 2012;80(3), 996-1006.
- 82. Lalvani A, Millington KA.**
T Cells and tuberculosis: beyond interferon- gamma.
J Infect Dis 2008;197(7):941-3.

- 83. Beauvillain C, Jeannin P, Renier G, et al.**
Apport des tests de quantification de la libération d'interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés pour le diagnostic des infections tuberculeuses.
Rev Fr Lab 2009;410:33–40.
- 84. Saenz, B., Hernandez-Pando, R., Fragoso, G., Bottasso, O., & Cardenas, G.**
The dual face of central nervous system tuberculosis: A new Janus Bifrons?
Tuberculosis (Edinb), 2013;93(2), 130–135.
- 85. Ramakrishnan L.**
Revisiting the role of the granuloma in tuberculosis.
Nat. Rev. Immunol. 2012;12:352–66.
- 86. Lu LL, Chung AW, Rosebrock TR, et al.**
A functional role for antibodies in tuberculosis.
Cell 2016; 167(2): 433–443.e14.
- 87. Zimmermann N, Thormann V, Hu B, et al.**
Human isotype-dependent inhibitory antibody responses against *Mycobacterium tuberculosis*.
EMBO Mol Med 2016; 8: 1325–39.
- 88. Arturo Casadevall.**
Antibodies to *Mycobacterium tuberculosis*.
N Engl J Med 2017; 376:283–285.
- 89. Hansted E, Sitkauskiene 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.
- 90. 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.
- 91. Flynn JL, Chan J.**
Immunology of tuberculosis.
Annu Rev Immunol 2001;19:93–129.
- 92. 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.

93. **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.
94. **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.
95. **Prakasha SR, Suresh G, D'sa IP, Shetty SS, Kumar SG.**
Mapping the pattern and trends of extrapulmonary tuberculosis.
J Glob Infect Dis 2013;5:54—9.
96. **Solovic I, Jonsson J, Korzeniewska-Koseła M, Chiotan DI, Pace-Asciak A, et al.**
Challenges in diagnosing extra-pulmonary tuberculosis in the European Union, 2011.
Euro Surveill 2013;18:1—9.
97. **Lanoix J-P, Douadi Y, Borel A, Andrejak C, El Samad Y, Ducroix J-P, et al.**
Traitement de la tuberculose ganglionnaire : des recommandations à la pratique.
Med Mal Infect 2011;41:87—91.
98. **Marrakchi C, Maâloul I, Lahiani D, Hammami B, Boudawara T, Zribi M, et al.**
Diagnostic de la tuberculose ganglionnaire périphérique en Tunisie.
Med Mal Infect 2010;40:119—22.
99. **Ketata W, W.K. Rekik, H. Ayadi, S. Kammoun.**
Les tuberculoses extrapulmonaires.
Rev Pneumol Clin 2014 ; 0761-8417.
100. **Light RW.**
Update on tuberculous pleural effusion.
Respirology 2010;15:451—8.
101. **Conde MB, Loivos AC, Rezende VM, Soares SLM, Mello FCQ, et al.**
Yield of sputum induction in the diagnosis of pleural tuberculosis.
Am J Respir Crit Care Med 2003;167:723—5.
102. **Pascal Giudice, Nicolas Dupin, Amel Mebazaa, Mourad Mokni.**
Dermatologie infectieuse. Chapitre 24 : tuberculose cutanée.
Première édition. France : Elsevier Masson, 2014. 360. 978-2-294-73502-8.e-book.

- 103. Bernard Cribier, Maxime Battistella.**
Dermatologie de la clinique à la microscopie.
Première édition. France : Elsevier Masson, 2015. 978-2-294-73668-1.e-book.
- 104. Pertuiset E.**
Tuberculose vertébrale de l'adulte.
EMC –Appareil locomoteur. Paris: Elsevier Masson SAS; 2010 ;15-852-A-10.
- 105. Garg RK, Somvanshi DS.**
Spinal tuberculosis: a review.
J SpinalCord Med 2011;34:440—54.
- 106. Cheung, W. Y., & Luk, K. D. (2013).**
Clinical and radiological outcomes after conservative treatment of TB spondylitis: Is the 15 years follow-up in the MRC study long enough?
European Spine Journal, 2013;22(Suppl 4), 594-602.
- 107. Ludwig B, Lazarus A.**
Musculoskeletal tuberculosis.
Dis Mon2007;53:39—45.
- 108. Figueiredo AA, Lucon AM.**
Urogenital tuberculosis: update and review of 8961 cases from the world literature.
Rev Urol 2008;10:207—17.
- 109. Bouhaouala MH, Hendaoui L, Mrad-Dali K, Marzouk I, EldiastyT, Dali N, et al.**
Imagerie de la tuberculose du haut appareil urinaire.
EMC – Radiologie et imagerie médicale – Génito-urinaire – Gynéco-obstétricale – Mammaire
2013;8:1—18.
- 110. Kapoor R, Ansari MS, Mandhani A, Gulia A.**
Clinical pre-presentation and diagnostic approach in cases of genitourinary tuberculosis.
Indian J Urol 2008;24:401—5.
- 111. Koutlidis N, Fillion A, Michel F.**
Tuberculose urogénitale.
EMC – Urologie. Paris: Elsevier Masson SAS; 2009;18-078-A-10.
- 112. Thangappah RBP, Paramasivan CN, Narayanan S.**
Evaluating PCR, culture & histopathology in the diagnosis of female genital tuberculosis.
Indian J Med Res 2011;134:40—6.

113. Kapoor VK.
Abdominal tuberculosis.
Postgrad Med J 1998;74:459–67.
114. Chen H-L, Wu M-S, Chang W-H, Shih S-C, Chi H, Bair M-J.
Abdominal tuberculosis in southeastern Taiwan: 20 years of experience.
J Formos Med Assoc 2009;108:195–201.
115. Tan K-K, Chen K, Sim R.
The spectrum of abdominal tuberculosis in a developed country: a single institution's experience over 7 years.
J Gastrointest Surg 2009;13:142–7.
116. Hallur V, Sharma M, Sethi S, Sharma K, Mewara A, Dhatwalia S, et al.
Development and evaluation of multiplex PCR in rapid diagnosis of abdominal tuberculosis.
Diagn Microbiol Infect Dis 2013;76:51–5.
117. Bomanji JB, Gupta N, Gulati P, Das CJ.
Imaging in tuberculosis.
New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2014.
118. Skoura E, Zumla A, Bomanji J.
Imaging in tuberculosis.
Int J Infect Dis 2015; 32: 87–93.
119. Hantous-Zannad S, et al.
Apport de l'imagerie dans la tuberculose thoracique.
Rev Pneumol Clin 2014.
120. Jeong YJ, Lee KS.
Pulmonary tuberculosis: up-to-date imaging and management.
AJR Am J Roentgenol 2008;191:834–44.
121. Koh WJ, Jeong YJ, Kwon OJ, Kim HJ, Cho EH, Lew WJ, et al.
Chest radiographic findings in primary pulmonary tuberculosis: observations from high school outbreaks.
Korean J Radiol 2010;11:612–7.
122. Lee ES, Park CM, Goo JM, Yim JJ, Kim HR, Lee HJ, et al.
Computed tomography features of extensively drug-resistant pulmonary tuberculosis in non-HIV-infected patients.
J Comput Assist Tomogr 2010;34:559–63.

123. **Afranio Kritski, Fernando Augusto, Fiuza de Melo.**
Tuberculosis 2007 from basic science to patient care. Chapter 15: Tuberculosis in adults.
First edition 2007.
124. **Hemskerck, D., Caws, M., Marais, B., Farrar, J.**
Tuberculosis in adults and in children. Chapter 3: clinical manifestations. *SpringerBriefs in Public Health, 2015; e-book.*
125. **Botha H, Ackerman C, Candy S, Carr JA, Griffith-Richards S, Bateman KJ.**
Reliability and diagnostic performance of CT imaging criteria in the diagnosis of tuberculous meningitis.
PLoS One 2012;7:e38982.
126. **Rocha EL, Pedrassa BC, Bormann RL, et al.**
Abdominal tuberculosis: a radiological review with emphasis on computed tomography and magnetic resonance imaging findings.
Radiol Bras. 2015;48:181-91.
127. **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.
128. **Lee P, Ho KK.**
Hyponatremia in pulmonary TB evidence of ectopic antidiuretic hormone production.
Chest 2010;137-207-8.
129. **World Health Organization.**
Global tuberculosis control.
Geneva, Switzerland: WHO; 2012.
130. **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.
131. **Lionel Donato.**
Pneumologie pédiatrique : guide pratique. Chapitre 7: tuberculose.
Première édition. Elsevier Masson 2011.
132. **Procop GW.**
Laboratory diagnosis and susceptibility testing for *Mycobacterium tuberculosis*.
Microbiol Spectrum 2016;4(6): TNMI7-0022-2016.

- 133. World Health Organisation.**
Same-day-diagnosis of tuberculosis by microscopy.
Geneva, Switzerland: WHO; 2010.
- 134. Groupe de travail du conseil supérieur d'hygiène publique, France.**
Diagnostic clinique et bactériologique de la tuberculose.
Médecine et maladies infectieuses 2004 ;34:364-370.
- 135. Small PM, Pai M.**
Tuberculosis diagnosis—time for a game change.
N Engl J Med 2010;363:1070-1.
- 136. Steingart KR, Ng V, Henry M, et al.**
Sputum processing methods to improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic review.
Lancet Infect Dis 2006;6:664-74.
- 137. Minion J, Pai M, Ramsay A, Menzies D, Greenway C.**
Comparison of LED and conventional fluorescent microscopy for detection of acid fast bacilli in a low incidence setting.
PLoS One 2011;6:e22495.
- 138. World Health Organisation.**
Fluorescent light emitting diode(LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis. In: WHO policy statement.
Geneva, Switzerland: WHO; 2010.
- 139. Slim-Saidi L, E. Mehiri-Zeghal, A. Ghariani et F. Tritar.**
Nouvelles méthodes de diagnostic de la tuberculose.
Rev Pneumol Clin 2015;0761-8417.
- 140. Fitzwater SP, Caviedes L, Gilman RH, Coronel J, LaChira D, Salazar C, et al.**
Prolonged infectiousness of tuberculosis patients in a directly observed therapy short-course program with standardized therapy.
Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am 2010;51:371-8.
- 141. Horne DJ, Royce SE, Gooze L, Narita M, Hopewell PC, Nahid P, et al.**
Sputum monitoring during tuberculosis treatment for predicting outcome: systematic review and meta-analysis.
Lancet Infect Dis 2010;10:387-94.

142. **Hervé C, Bergot E, Veziris N and Blanc FX.**
Tuberculosis in 2015: from diagnosis to the detection of multiresistant cases.
Rev Mal Respir. 32:784-790. 2015.
143. **Guillet-Caruba C, et al.**
Les nouveaux outils de diagnostic microbiologique de la tuberculose maladie.
Rev Med Interne 2014.
144. **Cruciani M, Scarparo C, Malena M, Bosco O, Serpelloni G, Men-goli C.**
Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria.
J Clin Microbiol 2004;42:2321-5.
145. **Ninnet B, Roux-Lambart P, Schrenzela, Janssens JP.**
Nouveaux tests pour le diagnostic de la tuberculose.
Rev Mal Resp. 2011; 28(6):823-833.
146. **Bergmann JS, Fish G, Woods GL.**
Evaluation of the BBL MGIT (mycobacterial growth indicator tube) AST SIRE system for antimicrobial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to 4 primary antituberculous drugs.
Arch Pathol Lab Med 2000;124:82-6.
147. **Piersmoni C, Olivieri A, Benacchio L, Scarparo C.**
Current perspectives on drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex: the automated non-radiometric systems.
J Clin Microbiol 2006;44:20-8.
148. **Gravet A, Souillard N, Habermacher J, Moser A, Lohmann F, Schmitt F, et al.**
Culture and susceptibility testing of mycobacteria with Versa TREK.
Pathol Biol 2011;59:32-8.
149. **World Health Organization.**
The use of liquid TB culture and drug susceptibility testing (DST) in low and medium income setting.
Geneva, Switzerland: WHO; 2007.
150. **Lin S, Desmond E, Bonato D, et al.**
Multicenter evaluation of Bactec MGIT 960 system for second-line drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex.
J Clin Microbiol 2009;47:3630-4.

151. **Cardoso S., Martin A., Mejia G., Palomino J., Da Silva M., Portaels F.**
Practical handbook for the phenotypic and genotypic identification of mycobacteria. *Section 1 2004.*
152. **Organización Panamericana de la Salud.**
Normas y Guía Técnica. Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. *Capítulo II. Cultivo 2008.*
153. **Bernardelli Amelia.**
Manual de Procedimientos. Clasificación fenotípica de las micobacterias. *Dirección de Laboratorio y Control Técnico 2007.*
154. **Solis LA, Shin SS, Han LL.**
Validation of a rapid method for detection of *M. tuberculosis* resistance to isoniazid and rifampicin in Lima Peru.
Int J Tuberc Lung Dis 2005;9:760–4.
155. **Musa HB, Ambroggi M, Soutto A, Ängeby K.**
Drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by a nitrate reductase assay applied directly on microscopy-positive sputum samples.
J Clin Microbiol 2005;43:3159–61.
156. **Kumar VG, Urs TA, Ranganath RR.**
MPT 64 Antigen detection for Rapid confirmation of *M. tuberculosis* isolates.
BMC Res Notes 2011;4:79.
157. **MULLIS K. B.**
The unusual origin of the polymerase chain reaction.
Sci. Am. 1990, 240, 56–65.
158. **GUYER R. L., KOSHLAND D. E. Jr.**
The molecule of the year. Glittering prize for materials science.
Science 1990,250,1640–1643.
159. **C. Truffot-Pernot, N. Veziris**
Les tests bactériologiques de la tuberculose maladie: standards et perspectives
Rev. Mal. Respir 2011,28 pp. 1034–1047.
160. **Palomino JC.**
Molecular detection, identification and drug resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis*.
FEMS Immunol Med Microbiol 2009; 56: 103–11.

161. **Sanker S, Ramamuthy M, Nandagopal B, et al.**
An appraisal of PCR-based technology in the detection of *Mycobacterium tuberculosis*.
Mol Diag Ther 2011; 15: 1-11.
162. **Noor, K. M., Shephard, L., & Bastian, I.**
Molecular diagnostics for tuberculosis.
Pathology 2015, 47(3), 250-256.
163. **World Health Organization.**
Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB).
Geneva: WHO, 2008.
164. **Kokuto H, Sasaki Y, Yoshimatsu S, Mizuno K, Yi L, Mitarai S.**
Detection of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) in fecal specimens from adults diagnosed with pulmonary tuberculosis using the Xpert MTB/rifampicin test.
Open Forum Infect Dis. 2015;2(2):ofv074.
165. **Steingart K, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme C, Dendukuri N.**
Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults.
Cochrane Database Syst Rev, 2013. CD009593.
166. **Somily AM, Barry MA, Habib HA, et al.**
Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and *rpoB* gene in respiratory and non-respiratory clinical specimens at a tertiary care teaching hospital in Saudi Arabia.
Saudi Medical Journal. 2016;37(12):1404-1407.
167. **Philip N. William T. John DV.**
Diagnosis of tuberculosis meningitis: challenges and promises.
Malays J Pathol 2015; 37:1-9.
168. **Pehlivanoglu F, Kart Yasar K, Sengoz G.**
Tuberculous meningitis in adults: a review of 160 cases.
Scientific World Journal 2012:169028.
169. **Nhu NT, Heemskerk D, Merson L, Van Thinh TT, Day J, Chau NV et al.**
Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculous meningitis.
J Clin Microbiol 2014;52:226-233.

170. Patel VB, Theron G, Lenders L, Matinyena B, Connolly C, Singh R, Coovadia Y, Ndung'u T, Dheda K.
Diagnostic accuracy of quantitative PCR (Xpert MTB/RIF) for tuberculous meningitis in a high burden setting: a prospective study.
PLoS Med 2013;10:e1001536.
171. Uyar GG, Turgut AT, Turgut M, Akhaddar A, Garg RK.
Tuberculosis of the Central Nervous System. Chapter 25: Traditional and New Laboratory Procedures.
First edition. Springer International Publishing. 633p.
172. World Health Organization.
Automated Real-Time Nucleic Acid Amplification Technology For Rapid And Simultaneous Detection Of Tuberculosis And Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF System Policy Statement.
World Health Organization, Geneva; 2011.
173. Richeldi L.
An update on the diagnosis of tuberculosis infection.
Am J Respir Crit Care Med 2006;174(7):736–42.
174. Lalvani A.
Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy.
Chest 2007;131:1898–906.
175. Groupe de travail du Conseil Supérieur d'hygiène Publique de France.
L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) ou test à la tuberculine.
Rev Mal Respir 2003;20:527–33.
176. Diel R, Goletti D, Ferrara G, Bothamley G, Cirillo D, Kampmann B, et al.
Interferon release assays for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: a systematic review and meta-analysis.
Eur Respir J 2011;37:88–99.
177. Jabri H, N. Lakhdar, W. El Khattabi et H. Afif.
Les moyens diagnostiques de la tuberculose.
Rev Pneumol Clin 2016;761–8417.
178. Pai M, Zwerling A, Menzies D.
Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection.
Ann Intern Med 2008;149:177–84.

- 179. Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K.**
Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection – United States, 2010.
MMWR Recomm Rep. 2010;59:1–25.
- 180. EL AZBAOUI, S., SABRI, A., OURAINI, S., et al.**
Utility of the QuantiFERON®–TB Gold In–Tube assay for the diagnosis of tuberculosis in Moroccan children.
The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2016, vol. 20, no 12, p. 1639–1646.
- 181. Rangaka MX, Wilkinson KA, Glynn JR, Ling D, Menzies D, Mwansa Kambafwile J, et al.**
Predictive value of interferon release assays for incident active tuber–culosis: a systematic review and meta–analysis.
Lancet Infect Dis 2012;12:45–55.
- 182. Goletti D, Sester M.**
Screening for latent infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a plea for targeted testing in low endemic regions.
Expert Rev Mol Diagn 2012;12:231–4.
- 183. Fraisse P.**
La tuberculose, le patient, le médecin et la société.
Rev Mal Respir 2013;30:444–5.
- 184. Ait–Khaled N. and D. Enarson.**
Tuberculose: Manuel pour les étudiants en médecine. Paris et Genève: Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires.
Organisation Mondiale de la Santé 1999.149p.
- 185. World Health Organization.**
BCG vaccine.
Weekly epidemiological record (WER).2004; 4:25–40.
- 186. 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.
- 187. Centers for disease control and prevention (CDC).**
Recommendations for use of an isoniazid–rifapentine regimen with direct observation to treat latent *Mycobacterium tuberculosis* infection.
MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2011;60:1650–3.

188. World Health Organization.

Guidelines for intensified tuberculosis case-finding and isoniazid preventive therapy for people living with HIV in resource-constrained settings.

Geneva: WHO Press; 2011.

189. Bouchentouf R, et al.

Tuberculose disséminée survenant après traitement de la maladie de Crohn par infliximab : à propos d'un cas.

Rev Pneumol Clin 2014.

190. World Health Organisation (WHO).

Global Tuberculosis Control, Surveillance, planning and financing.

Genève: World Health Organisation.2008;294p.

191. World Health Organisation.

Plan Mondial Halte à la tuberculose 2011-2015.

Genève: World Health Organisation. 2011;20 p.

192. World Health Organisation (WHO).

Global Tuberculosis Report.

Genève: World Health Organisation.2015;192p.

193. World Health Organisation

Treatment of tuberculosis: guidelines - 4th ed.

Geneva, World Health Organization, 2010.

194. Zumla A, Nahid P, Cole ST.

Advances in the development of new tuberculosis drugs and treatment regimens.

Nat Rev Drug Discov. 2013;12(5):388-404.

195. Jacques H. Grosset. Richard E. Chaisson.

Handbook of Tuberculosis.

First edition. Springer International Publishing Switzerland 2017. 221p.

196. Horne DJ, Spitters C, Narita M.

Experience with rifabutin replacing rifampin in the treatment of tuberculosis.

Int J Tuberc Lung Dis 2011;15:1485-90.

197. Loeliger A, Suthar AB, Ripin D, Glaziou P, O'Brein M, Renaud-Thery F, et al.

Protease inhibitor-containing antiretroviral treatment and tuberculosis : can rifabutin fill the breach ?

Int J Tuberc Lung Dis 2012;16:6-15.

198. **Dorman, S. E., and Chaisson, R. E.**
From magic bullets back to the magic mountain: the rise of extensively drug-resistant tuberculosis.
Nature medicine 2007;13, 295–298.
199. **World Health Organisation.**
Global Tuberculosis Control 2010.
Genève: World Health Organisation 2010.
200. **TIBERI, Simon, SCARDIGLI, Anna, CENTIS, Rosella, et al.**
Classifying new anti-tuberculosis drugs: rationale and future perspectives.
International Journal of Infectious Diseases, 2017, vol. 56, p. 181–184.
201. **World Health Organisation.**
Le traitement de la tuberculose: Principes à l'information des programmes nationaux.
Genève: World Health Organisation 2003;110 p.
202. **Camirero JA., G. Sotgiu, A. Zumla and GB. Migliori.**
Best drug treatment for multidrug resistant and extensively drug-resistant tuberculosis.
Lancet. Infect. Dis. 2010;10: 621–629.
203. **Marigot-Outtandy D. and C. Perronne.**
Les nouveaux antituberculeux.
Réanimation 2009;18: 334–342.
204. **Bouchentouf R.**
Les actualités dans la tuberculose.
J. Fran. Viet. Pneu. 2012 ;03(08): 1–65.
205. **Canetti G, Rist N, Grosset J.**
Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions.
Rev Tuberc Pneumol 1963;27:291–8.
206. **British Medical Research Council.**
Streptomycin treatment of pulmonary tuberculosis. A Medical Research Council investigation.
BMJ 1948;2:759–83.
207. **Zhang Y, Yew WW.**
Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*.
Int J Tuberc Lung Dis 2009;13:1320e30.

208. Claver AD, Falmer AA, Murray M, et al.
Emergence of increased resistance and extensively drug-resistant tuberculosis despite treatment adherence, South Africa.
Emerg Infect Dis 2010;16:264–71.
209. Labie D.
Mycobacterium tuberculosis with extensive resistance.
Med Sci (Paris) 2007;23(2):205–9.
210. Raviglione MC, Smith IM.
XDR tuberculosis—implications for global public health.
N Engl J Med 2007;356(7):656–9.
211. Musser JM.
Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights.
Clin. Microbiol. Rev. 1995;8(4):496–514.
212. Ramaswamy S, Musser J M.
Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update.
Tubercle Lung Dis 1998; 79: 3–29.
213. Soudani A, Hadjfredj S, Zribi M, et al.
Characterization of Tunisian *Mycobacterium tuberculosis* rifampin-resistant clinical isolates.
J Clin Microbiology 2007; 45: 3095–3097.
214. Kourout, M., et al.
Molecular characterisation of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains from Morocco.
The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 2009;13.11: 1440–1442.
215. Ahmad S, Mokaddas E.
The occurrence of rare *rpoB* mutations in rifampicin-resistant clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Kuwait.
Int J Antimicrob Agents 2005; 26: 205–212.
216. Telenti A, Imboden P, Marchesi F, et al.
Detection of rifampicin resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*.
Lancet 1993; 341: 647–650.
217. Sabouni R, M. Kourout, I. Chaoui, AM. Jordann, M. Akrim, TC. Victor et al.
Molecular analysis of multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Morocco.

Annals of Microbiology. 2008;58 (4):749–754.

218. Mukinda FK, D. Theron, GD. Van der Spuy, KR. Jacobson, M. Roscher et al.
Rise in rifampicin–monoresistant tuberculosis in Western Cape, South Africa.
Int. J. Tuberc. Lung. Dis. 2012;16(2)/196–202.
219. Bernstein J, WA. Lott, BA. Steinberg, HL. Yale.
Chemotherapy of experimental tuberculosis. V. Isonicotinic acid hydrazide (nydrazid) and related compounds.
Am Rev Tuberc. 1952;65(4) :357–64.
220. Brossier F.
Mécanismes d'action et de résistance de l'isoniazide, un antituberculeux de première ligne.
Journal des Anti-infectieux. 2210–6545. 2011.
221. Wade M M, Zhang Y.
Anaerobic incubation conditions enhance pyrazinamide activity against *Mycobacterium tuberculosis*.
J Med Microbiol 2004; 53: 769–773.
222. 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.
223. 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.
224. Jureen P, Werngren J, Toro J C, et al.
Pyrazinamide resistance and *pncA* gene mutations in *Mycobacterium tuberculosis*.
Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 1852–1854.
225. Takayama K, Kilburn J.
Inhibition of synthesis of arabinogalactane by ethambutol in *Mycobacterium smegmatis*.
Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 1493–1499.
226. Maugein, J., & Chemoul, A.
La résistance aux antituberculeux.
Revue Francophone des Laboratoires, 2010(422), 43–50.

227. Rusch–Gerdes S, Pfyffer GE, Casal M, et al.

Multicenter laboratory validation of the Bactec MGIT 960 technique for testing susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* to classical second–line drugs and newer antimicrobials.

J Clin Microbiol 2006;44:688–92.

228. World Health Organisation.

Non commercial culture and drug–susceptibility testing methods for screening patients at risk for multidrug–resistant tuberculosis: policy statement.

Geneva, Switzerland: WHO; 2011.

229. Shah NS, Moodley P, Babaria P, Moodley S, Ramtahal M, Richardson J, et al.

Rapid diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance by the microscopic–observation drug–susceptibility assay.

Am J Respir Crit Care Med 2011;183:1427–33.

230. World Health Organisation.

Tuberculose : lignes directrices relatives à la surveillance de la pharmacorésistance.

Geneva, Switzerland: WHO. Cinquième édition 2015. 86p.

231. Morgan M, Kalantri S, Flores L, Pai M.

A commercial lineprobe assay for the rapid detection of rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review and meta–analysis.

BMC Infect Dis 2005;5:62.

232. Brossier F, Veziris N, Jarlier V, Sougakoff W.

Performance of MTBDR plus for detecting high/low levels of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to isoniazid.

Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis 2009 (217);13:260–5.

233. Yadav RN, Singh BK, Sharma SK, Sharma R, Soneja M, Sreenivas, et al.

Comparative evaluation of genotype MTBDRplus line probe assay with solid culture method in early diagnosis of multidrug resistant tuberculosis (MDR–TB) at a tertiary care centre in India.

Plos One 2013;8.

234. Crudu V, Stratan E, Romancenco E, Allerheiligen V, Hillemann A, Moraru N.

First evaluation of an improved assay for molecular genetic detection of tuberculosis as well as rifampin and isoniazid resistances.

J Clin Microbiol 2012;50:1264–9.

235. **Feng Y, Liu S, Wang Q, Wang L, Tang S, Wang J, et al.**
Rapid diagnosis of drug resistance to fluoroquinolones, amikacin, capreomycin, kanamycin and ethambutol using genotype MTBDRs/ assay: a meta-analysis.
Plos One 2013;8.
236. **Kiet VS, Lan NTN, An DD, Dung NH, Hoa DV, Chau NV, et al.**
Evaluation of the MTBDRs/ test for detection of second linedrug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*.
J Clin Microbiol 2010;48:2934.
237. **Ajbani K, Nikam C, Kazi M, Gray C, Boehme C, Balan K, et al.**
Evaluation of GenoType MTBDRs/ assay to detect drug resistance associated with fluoroquinolones, aminoglycosides and ethambutol on clinical sediments.
Plos One 2012;7.
238. **World Health Organization.**
Automated Real-Time Nucleic Acid Amplification Technology For Rapid And Simultaneous Detection Of Tuberculosis And Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF System Policy Statement.
Geneva, World Health Organization 2011.
239. **Sanchez-Padilla E, Merker M, Beckert P, Jochims F, Dlamini T, Kahn P, et al.**
Detection of drug-resistant tuberculosis by Xpert MTB/RIF in Swaziland.
N Engl J Med. 2015;372(12):1181-2.
240. **Mulu W, Abera B, Yimer M, Hailu T, Ayele H, Abate D.**
Rifampicin-resistance pattern of *Mycobacterium tuberculosis* and associated factors among presumptive tuberculosis patients referred to Debre Markos Referral Hospital, Ethiopia: a cross-sectional study.
BMC Research Notes. 2017;10:8.
241. **Nwadioha SI, Nwokedi EOP, Ezema GC, Eronini NC, Anikwe A, Audu F, et al.**
Drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Benue, Nigeria.
Br Microbiol Res J 2014. 2014;4(9):988-95.
242. **Chakraborty, S. , Chakraborty, A. , Talukder, T. , Mukherjee, M. and Chatterjee, T.**
Prevalence of *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated from Both Pulmonary and Extra Pulmonary Samples and Their Resistance to Rifampicin: A Study from Kolkata and Surrounding Suburbs.

Journal of Tuberculosis Research 2016; 4, 61–71.

243. CDC.

Reported Tuberculosis in the United States, 2013.

Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, October 2014.

244. Mboowa G, Namaganda C, Ssenkooba W.

Rifampicin resistance mutations in the 81 bp RRDR of *rpoB* gene in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates using Xpert®MTB/RIF in Kampala, Uganda: a retrospective study.

BMC Infectious Diseases. 2014;14:481.

245. Mekonnen F, Tessema B, Moges F, Gelaw A, Eshetie S, Kumera G.

Multidrug resistant tuberculosis: prevalence and risk factors in districts of metema and West armachiho Northwest Ethiopia.

BMC Infect Dis. 2015;15:461.

246. Namburete, Evangelina Inácio, et al.

Drug-resistant tuberculosis in Central Mozambique: the role of a rapid genotypic susceptibility testing.

BMC Infectious Diseases 2016 ;16.1: 423.

247. Singhal, Ritu et al.

Detection of Multi-Drug Resistance & Characterization of Mutations in *Mycobacterium Tuberculosis* Isolates from North- Eastern States of India Using GenoType MTBDR*plus* Assay.

The Indian Journal of Medical Research 2014;140.4: 501–506. Print.

248. Banu, S., et al.

Multidrug-resistant tuberculosis in Bangladesh: results from a sentinel surveillance system.

Int. J. Tuberc. Lung. Dis. 2017;21.1: 12–17.

249. Hamusse SD, Teshome D, Hussen MS, Demissie M, Lindtjørn B.

Primary and secondary anti-tuberculosis drug resistance in Hitossa District of Arsi zone, Oromia regional state, Central Ethiopia.

BMC Public Health. 2016;16(1):593.

250. Al-Hajoj, Sahal, et al.

Epidemiology of antituberculosis drug resistance in Saudi Arabia: findings of the first national survey.

Antimicrobial agents and chemotherapy 2013 ;57.5: 2161–2166.

251. Nhung, N. V., et al.

The fourth national anti-tuberculosis drug resistance survey in Viet Nam.
Int. J. Tuberc. Lung. Dis. 2015;19.6: 670–675.

252. Yang, Ying, et al.

Prevalence and characterization of drug-resistant tuberculosis in a local hospital of Northeast China.
Int. J. Tuberc. Lung. Dis. 2014;22: 83–86.

253. Alfaresi, Mubarak Saif, and Mohammed Hag–Ali.

Susceptibility pattern and epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in United Emirati Hospital.
The open microbiology journal 2010 ;4: 1.

254. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe.

Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2015.
ECDPC 2015.

255. Fregona, Geisa, et al.

Risk factors associated with multidrug-resistant tuberculosis in Espírito Santo, Brazil.
Revista de Saúde Pública 2017;15.

256. Tuberculosis country profiles. Morocco

Disponible sur (<http://www.who.int/tb/country/data/profiles/en/>) (Consulté le: 2017-03-18).

257. Mekonnen, Daniel, et al.

Multidrug-resistant and heteroresistant *Mycobacterium tuberculosis* and associated gene mutations in Ethiopia.
Int. J. Tuberc. Lung. Dis. 2015;39: 34–38.

258. Tuberculosis country profiles. Fédération Russe

Disponible sur (<http://www.who.int/tb/country/data/profiles/en/>) (Consulté le: 2017-03-18).

259. Tuberculosis country profiles. Roumanie

Disponible sur (<http://www.who.int/tb/country/data/profiles/en/>) (Consulté le: 2017-03-18).

260. Van der Werf, Marieke J., et al.

Drug resistance among tuberculosis cases in the European Union and European Economic Area, 2007 to 2012.
Euro Surveill 2014;19.10: 20733.

- 261. Luo, Dan, et al.**
Drug Resistance in Newly Presenting and Previously Treated Tuberculosis Patients in Guangxi Province, People's Republic of China.
Asia Pacific Journal of Public Health 2017; 1010539517700474.
- 262. Rahman, Hazir, et al.**
Molecular detection of rifampicin resistance by GeneXpert® assay among treated and untreated pulmonary tuberculosis patients from Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan.
Journal of Global Antimicrobial Resistance 2017.
- 263. Farazi, Aliasghar, et al.**
Drug resistance pattern and associated risk factors of tuberculosis patients in Iran's Central Province.
Caspian J Intern Med 2013; 4(4): 785-789.
- 264. Brhane, Mussie, Ameha Kebede, and Yohannes Petros.**
Molecular detection of multidrug-resistant tuberculosis among smear-positive pulmonary tuberculosis patients in Jigjiga town, Ethiopia.
Infection and Drug Resistance 2017;10: 75.
- 265. Faustini A, Hall AJ, Perucci CA. 2006.**
Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review. *Thorax 61:158-163.*
- 266. Pablos-Mendez A, Raviglione MC, Laszlo A, Binkin N, Rieder HL, Bustreo F et al.** Global surveillance for antituberculosis-drug resistance, 1994-1997. World Health Organization-International Union against Tuberculosis and Lung Disease Working Group on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance.
N. Engl. J. Med. 1998;338:1641-1649.
- 267. Wright A, Zignol M, Van Deun A, Falzon D, Gerdes SR, Feldman K et al.**
Epidemiology of antituberculosis drug resistance 2002-07: an updated analysis of the Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance.
Lancet 2009;373:1861-1873.
- 268. Espinal MA, Laserson K, Camacho M, Fusheng Z, Kim SJ, Tlali. et al.**
Determinants of drug-resistant tuberculosis: analysis of 11 countries.
Int J Tuberc Lung Dis. 2001;5(10):887-93.
- 269. Rangen N, Friis H, Mfaume S, Magnussen P, Changalucha J, Kilale A, et al.**
Anti-tuberculosis drug resistance pattern among pulmonary tuberculosis patients with or without HIV infection in Mwanza, Tanzania.

Tan J Health Res. 2012;14(4):1-9.

- 270. Aguiar F, Vieira MA, Staviack A, Buarque C, Marsico A, Fonseca L, et al.**
Prevalence of anti-tuberculosis drug resistance in an HIV/AIDS reference hospital in Rio de Janeiro, Brazil.
Int J Tuberc Lung Dis. 2009;13(1):54-61.
- 271. Parcell BJ, et al.**
Three year evaluation of Xpert MTB/RIF in a low prevalence tuberculosis setting: A Scottish perspective.
J Infect 2017.
- 272. Saeed, Muhammad, et al.**
GeneXpert: A new tool for the rapid detection of rifampicin resistance in *mycobacterium tuberculosis*.
JPMA 2017;67.2: 270.
- 273. Dharan, Nila J., et al.**
Performance of the G4 Xpert® MTB/RIF assay for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance: a retrospective case-control study of analytical and clinical samples from high-and low-tuberculosis prevalence settings.
BMC Infectious Diseases 2016 ;16.1: 764.
- 274. Hofmann-Thiel, Sabine, et al.**
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 Extrapulmonary Specimens.
Journal of Clinical Microbiology 2016 ;54.12:3022-3027.
- 275. Sohn H, Aero AD, Menzies D, Behr M, Schwartzman K, Alvarez GG, et al.**
Xpert MTB/RIF testing in a low tuberculosis incidence, high-resource setting: limitations in accuracy and clinical impact.
Clin Infect Dis 2014;58(7):970e6.
- 276. Boehm 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;363:1005e15.
- 277. Marilyn M Ninan, Mahasampath Gowri, D. J. Christopher, Priscilla Rupali & Joy S. Michael.**
The diagnostic utility of line probe assays for multidrug-resistant tuberculosis.
Pathogens and Global Health 2016;110 (4-5), 194-199.
- 278. Warren JR, Bhattacharya M, De Almeida KN, Trakas K, Peterson LR.**
A minimum 5.0 ml of sputum improves the sensitivity of acid-fast smear for *Mycobacterium tuberculosis*.

AJRCCM. 2000;161(5):1559-1562.

- 279. Davis, J. L., Cattamanchi, A., Cuevas, L. E., Hopewell, P. C., et Steingart, K. R.**
Diagnostic accuracy of same-day microscopy versus standard microscopy for pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis.
The Lancet infectious diseases, 2013;13(2), 147-154.

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 أثار على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.

وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني، وأكون أختا لكل زميل في المهنة الطبية
متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سرّي وعلانيتي، نقيّة مما يشينها تجاه
الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيدا

دراسة جزيئية لمقاومة عصيات مركب المتفطرات السلية للريفامبسين

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 28 /06 /2017

من طرف

الآنسة: ياسمين تميّاس

المزودة في 01 شتنبر 1991 بالدار البيضاء

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

متفطرات السل - دراسة جزيئية - مقاومة الريفامبسين

اللجنة

الرئيس	السيد	س. امال
		أستاذ في أمراض الجلد
المشرف	السيد	س. الزوهير
		أستاذ في علم البكتيريا والفيروسات
الحكام	السيدة	ل. أرسلان
		أستاذة في علم البكتيريا والفيروسات
	السيدة	ن. صراع
		أستاذة مبرزة في علم البكتيريا والفيروسات
	السيد	ح. ا. بنجلون
		أستاذ ميرز في أمراض الرئة