

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de microbiologie

Mémoire de fin de cycle

*En vue de l'obtention du Diplôme D'Ingénieur d'Etat en Génie
Biologique*

Thème:

*Epidémiologie de la maladie de la tuberculose
au niveau des trois UCTMR*

*(Bejaia, Akbou et Kherrata) durant l'année
2011*

Présenter par :

M^{lle} Djouder Mounira

Membres du jury :

Président : M^r Bensaid.

Promoteur : M^r Touati A.

Examineur : M^r Mouhoubi.

Examineur : M^r Yousfi A.



Remerciements



D'abord je tiens à remercier Dieu de m'avoir remis sur la voie des études et de m'avoir donné la force, la volonté et le courage de mener à terme ce modeste travail.

J'exprime mes remerciements pour mon promoteur Mr Touati Abdelaziz d'avoir accepté de m'encadrer ainsi que pour son aide, ses conseils, et sa gentillesse.

J'adresse toute ma gratitude au Dr Mouhoubi, phthisio pneumologue et Mr Yousfi, chef de bureau des programmes de santé à la DSP, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Je remercie Mr Bensaid d'avoir accepté de présider le jury, et m'avoir donné toutes les facilités concernant le dépôt du mémoire.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui m'ont aidé et soutenu de près ou de loin.

Enfin je remercie ma famille et mes amis(es) qui ont tout fait pour moi tout au long de mon parcours.



Dédicaces



A la mémoire de ma Cousine Saloua et de ma grand-mère que dieu repose leur âmes en paix

A mes très chers parents

En hommage à tous les sacrifices que vous avez consentis pour moi durant mes longues années d'études. Je n'aurai jamais espéré avoir de meilleurs parents. Je vous remercie d'avoir fait de moi ce que je suis maintenant et de m'avoir appris à vivre dans l'honneur et dans la dignité. Aucune dédicace, aucun mot, ne saurait exprimer réellement mon profond amour, mon respect et ma vive gratitude. Veuillez trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et vos sacrifices.

A ma sœur Siham et mes frères

En témoignage de mon profond amour : je vous souhaite une belle vie.

A toute la famille Djouder

A mes amis (es)

A tous mes professeurs

A tous ceux qui me sont chers

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 01

Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités

I.1. Historique 03

I.2. Définition 03

I.3. Habitat 04

I.4. Agents pathogènes 04

I.5. Classification 05

I.6. Caractéristiques de BK 06

I.6.1. Caractères physico-chimiques 06

I.6.2. Caractères morphologiques 06

I.6.3. Caractères biochimiques 06

I.6.4. Culture 08

I.6.5. Génétique 08

I.6.6. Resistance aux agents physiques et chimiques	09
I.6.7. Virulence	09
I.6.8. Contagiosité	09
I.6.9. Resistance aux antibiotiques	10
I.7. Transmission	10
I.8. Symptômes	11
I.9. Physiopathologie	11
I.9.1. Défenses immunitaires non spécifiques	11
I.9.2. Défenses immunitaires spécifiques	12
I.10. Epidémiologie de la tuberculose en Algérie et dans le monde	12
I.10.1. En Algérie	12
I.10.2. Dans le monde	13

Chapitre II : Diagnostic

II.1. Aspects cliniques	15
II.1.1. Tuberculose pulmonaire	15
a. Tuberculose primo-infection	15
b. Tuberculose secondaire	16
II.1.2. Tuberculose extra-pulmonaire (TEP)	17
a. TB ganglionnaire	18

b.TB génito-urinaire	19
c.TB osseuse et articulaire.....	19
d.Tuberculose milliaire	19
e.Méningite tuberculeuse.....	20
II.2.Diagnostic biologiques.....	17
II.2.1.Prélèvements	17
II.2.2.Diagnostic direct	17
a. Examens bactériologiques.....	17
b.Examen microscopique	17
c.Examen radiologique.....	19
II.2.3.Diagnostic indirect	19
a. Intradermo-réaction (IDR)	19
b.Vaccination par BCG	20
c.Lanked immunosorbent assay (ELISA)	20

Etude expérimentale

I. Matériel et méthodes	22
I.1.Matériel	21
I.1.1Materiels non biologiques.....	21
I.1.2.Matériels biologiques.....	22

I.2.Méthodes.....	25
I.2.1Examen microscopique	25
a.Coloration de Ziehl-Neelsen.....	25
b. Notion des résultats	27
c. Types des résultats.....	28
I.2.2.Culture.....	38
a. Décontamination.....	28
a.1. Méthode de Petroff à la soude	28
a.2. Méthode de la culture.....	29.

Résultats et discussion

II.1.Répartition de la tuberculose.....	31
Conclusion.....	35

Bibliographie et Webliographie

Annexes

Liste des figures

Figure N ° 1 : images historiques, (1) le scientifique Robert Koch qui a donné son nom à l'agent causal de la tuberculose.

Figure N ° 2 : le traitement de la tuberculose.

Figure N ° 3: la structure de la paroi de *Mycobacterium* .

Figure N ° 4 : aspect du milieu **LJ**.

Figure N ° 5: Physiopathologie de l'infection tuberculeuse.

Figure N ° 6: Estimation de la tuberculose dans le monde en 2005.

Figure N ° 7: Colorisation de Ziehl Neelsen : les bacilles apparaissent rouges sur un fond bleu de la préparation.

Figure N ° 8 : Coloration à l'auramine: les bacilles apparaissent jaunes fluorescents sur un fond rouge.

Figure N ° 9 : Quelques matériels utilisés au niveau de laboratoire.

Figure N ° 10 : Quelques appareils utilisés au niveau de laboratoire.

Figure N ° 11-16 : Méthode de coloration de Ziel-Neelsen.

Figure N ° 17: Aspect de *M.tuberculosis* sur le milieu **Lowenstein-Jensen** sous forme d'un chou-fleur.

Figure N ° 18: Répartition de la tuberculose dans les trois régions (**Bejaia, Akbouet Kharrata**).

Figure N ° 19: Répartition de la tuberculose selon la localisation pulmonaire de BK.

Figure N ° 20 : Répartition de la tuberculose selon la localisation extrapulmonaire de BK.

Figure N ° 21: Répartition de la tuberculose selon nouveau cas et la rechute.

Liste des tableaux

Tableau I : Répartition des cas de tuberculose selon la localisation – Année 2005.

Tableau II : Lecture des résultats effectués lors de la coloration de Ziel- Neelsen.

Tableau III : Répartition de la tuberculose par saison.

Tableau IV : la répartition De la tuberculose en fonction de sexe.

Introduction

Introduction

La tuberculose reste une des maladies les plus fréquentes et les plus graves dans le monde. Elle est probablement l'une des plus anciennes maladies ayant accompagnée et influencée le destin de l'humanité, toujours responsable d'une morbidité et d'une mortalité importante, particulièrement dans les pays en voie de développement.

Longtemps considérée comme en voie de disparition dans les pays développés, actuellement elle demeure un problème majeur de la santé publique dans le monde entier en raison d'une part d'une augmentation de son incidence dans les zones où l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est fréquente, la recrudescence de la pauvreté dans les grandes métropoles où les conditions socio-économiques ne sont pas satisfaisantes et d'autre part de l'accroissement du nombre de bacilles tuberculeux multirésistants, malgré le programme de lutte antituberculeux qui a comme objectifs de garantir à chaque patient l'accès au diagnostic, au traitement et à la guérison (**Huchon,1997**).

Pout que la bactériologie prenne son essor, il fallut attendre les années 1870 et les travaux de deux savants : le Français Louis Pasteur (1822-1895) et l'Allemand Robert Koch (1843-1895). Avec leurs travaux respectifs sur le bacille du charbon et bien d'autres travaux, ils seront considérés comme les deux génies de la microbiologie et les fondateurs de la bactériologie médicales (**Delarras, 1999**).

Mycobacterium tuberculosis ou bacille de Koch (BK) est l'agent causal de la tuberculose humaine, c'est l'espèce la plus répandue et la plus étudiée des **Mycobacteriaceae**, bien que d'autres mycobactéries soient citées dans le diagnostic car présentant des similitudes de caractères pouvant prêter à confusion (**Huchon, 1997**).

La majorité des cas déclarés de tuberculose correspondent à des formes dites :

< pulmonaires > mais il existe aussi des formes < extrapulmonaires > et < disséminées >. La tuberculose pulmonaire est la forme la plus contagieuse de la maladie, conduisant à une destruction progressive et irréversible de la pulmonaire (**Perronne, 1999**).

Il y a plusieurs moyens de mettre en évidence les mycobactéries présentes dans un prélèvement. Le plus facile à réaliser, car demandant peu de moyens techniques, est l'examen microscopique qui dans les pays en développement, est souvent le seul à pouvoir être pratiqué directement à partir du produit pathologique, mais il est peu sensible et non spécifique ; aussi dans les régions développées il est complété par une mise en culture. L'obtention d'une

culture microbienne permet d'identifier l'espèce ,de réaliser l'étude de sa sensibilité aux antibiotique(Anonyme,2003) .

A cet effet, on se propose d'étudier la biologie, la clinique des infections tuberculeuses principalement pulmonaires, du fait de leur contagiosité, chronicité, ainsi que leur épidémiologie. Nous nous sommes fixés pour objectif la réalisation d'une étude pratique au niveau du l'UCTMR de la polyclinique Sidi Ahmad et au niveau la DESP de la wilaya de Bejaia.

Pour mieux expliquer le contexte de la maladie de la tuberculose, nous avons subdivisé le travail en deux parties, la première concerne l'analyse bibliographique, qui touche un peu les généralités et les origines de cette maladies, la deuxième concerne l'analyse expérimentale qui est aussi divisée en deux chapitres : Matériel et méthodes, Résultats et discussions et on termine par une conclusion finale.

10. Aspects cliniques

10.1. La tuberculose pulmonaire (TBP)

10.1.1. La tuberculose primo-infection

Les sujets restent asymptomatiques, c'est la tuberculose infection ou infection tuberculose ou la tuberculose infection témoigne de la rencontre avec le BK, elle se traduit par la positivité primo-infection.de la réaction d'hypersensibilité de type retardé à la tuberculine ou à la protéine partiellement purifiés en sont dérivées. Il s'agit du virage des réactions tuberculique qui s'accompagne d'un examen clinique normal, d'une radiographie normal et d'une bactériologie négative (Slwyn et al ., 1989).

Deux types de primo-infection peuvent être observés :

- **La primo-infection latente**

Elle représente l'expiration la plus fréquente de la primo-infection tuberculose tuberculeuse (80% des cas).Elle est asymptomatique, cliniquement et radiologiquement. Parfois des signes discrets sont retrouvés, elle se traduit par la positivité primo-infection de la réaction d'hypersensibilité de type retardé à la tuberculine ou à la protéine partiellement purifiés en sont dérivées. Il s'agit du virage des réactions tuberculiques qui s'accompagne d'un examen clinique normal, d'une radiographie normal et d'une bactériologie négative.

(Slwyn et al ., 1989 et Hunchon, 1994).

- **La primo-infection patente**

Elle est moins fréquente (20% environ), mais plus grave par ses conséquences due la latente. Elle s'accompagne souvent par des symptômes généraux (fièvre, asthénie, amaigrissement) et fonctionnels (limités en général à une toux souvent rauque)

(Chretien et al ., 1990).

En fait, son expression habituelle est principalement radiologique. Il est important de distinguer l'infection et la maladie (Chretien et al ., 1990 et Nauciel, 2000).

10.1.2. La tuberculose secondaire

La tuberculose secondaire est généralement due à la réactivation de germes quiescents à l'intérieure de l'organisme. C'est l'aspect caractéristique de la tuberculose, maladie

chronique associée à des lésions tissulaires étendues, et se terminant souvent par la mort si n'est pas traitée (John et al., 1999).

10.2. La tuberculose extra- pulmonaire (TEP)

10.2.1 TB génito-urinaire

La tuberculose génito-urinaire s'accompagne d'une pyurie stérile à l'examen bactériologique de routine ou d'une hématurie asymptomatique.

(Waecker, 2002 et Byrd et Ziner, 2001).

10.2.2. TB osseuse et articulaire

La tuberculose osseuse s'observe plutôt chez les malades âgés et touche surtout la colonne vertébrale thoracique (Tunon de Lara, 2004).

10.2.3. La tuberculose miliaire

Elle résulte de la dissémination sanguine des bacilles. Fréquente autrefois chez l'enfant, elle est en accroissement chez les personnes âgées. Elle ne se voit jamais chez les patients qui sont sous chimiothérapie (Askenasi et Evin-Adin, 1985).

11. Diagnostic biologique

Il repose sur la mise en évidence et l'identification du germe.

11.1. Les prélèvements

Ils doivent être répétés et effectués avant la mise en œuvre du traitement. S'il s'agit d'une tuberculose pulmonaire, on prélève l'expectoration obtenue par un crachat ou par un tubage gastrique. On peut aussi obtenir les sécrétions bronchiques au cours d'une fibroscopie par aspiration, brossage ou lavage broncho-alvéolaire. S'il s'agit d'une tuberculose extra-pulmonaire, on recueille, suivant les cas, les liquides de ponction, les urines ou le pus.

(Grosset, 1995).

11.1.2. Traitement des prélèvements

Etant donné que les crachats, pus d'abcès ouverts, tubage gastrique sont des produits contaminés et que les *M.tuberculosis* est plus résistante que les bactéries usuelles aux agents chimiques, une décontamination des prélèvements qui est assurée par l'addition d'un antiseptique (Soudé, lauryl sulfate de sodium,...ect). Il faut souligner que les agents chimiques agissent partiellement sur les mycobactéries, de ce fait, la décontamination est inutile et néfaste pour les prélèvements non souillés (Brech, 1988 et Grosset, 1995).

11.2. Le diagnostic direct

11.2.1. Examens bactériologiques

L'examen microscopique des crachats (bacilloscopie) permet identifier la manière simple, rapide et fiable des patients atteints de TB pulmonaire M⁺. Cependant sa sensibilité est faible. La culture est plus sensible mais nécessite un laboratoire plus équipé et qualifié. (Blasco *et al.*, 2010).

11.2.2. Examen microscopique

La recherche microscopique des BAAR revêt une importance capitale du fait de la lenteur de la culture de la plupart des mycobactéries par les méthodes traditionnelles, elle constitue un diagnostic présomptif précieux et souvent suffisant pour commencer une antibiothérapie de première intention.

(Boulaïhabal, 1985 ; Avril *et al.*, 1992 et Vincent, 1993).

➤ Coloration de Ziel-Neelsen à chaud

Permet la mise en évidence des bactéries acido-alcool-résistantes. C'est la méthode de référence (Arnobio, 2008).



Figure N°7: Colorisation de Ziehl Neelsen : les bacilles apparaissent rouges sur un fond bleu de la préparation (Anonym3). (www.bacterion.cict.fr/bacdico/htmlmycobacterioteriumtuberculosis).

➤ Coloration à l'auramine

Ce fait par la coloration de Dugommier à l'uramine (Fluochrome)

(Ait Abdeslam, 1970).

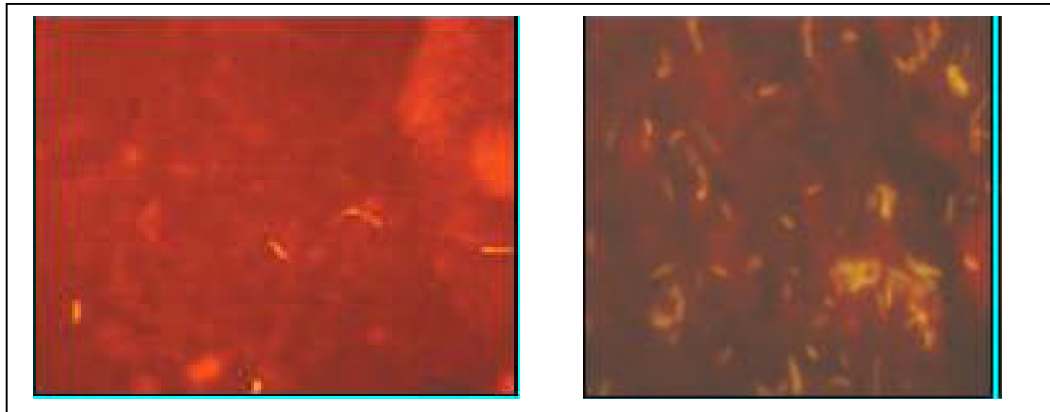


Figure N°8 : Coloration à l'auramine: les bacilles apparaissent jaunes fluorescents sur un fond rouge (Paul, 2004).

- Dans les deux types de coloration, après coloration de l'ensemble de la prélation, celle-ci est traitée par un acide fort dilué, puis par alcool. Dans ces conditions, seules les mycobactéries restent colorées (Ait Abdeslam, 1970).

L'avantage et inconvénients des différentes méthodes de diagnostic de la tuberculose sont trouvés dans l'Annexe N°I (Yala, 2001).

11.2.3. L'examen radiologique

Elle est presque toujours suffisante pour le diagnostic de tuberculose. Les images les plus typiques associent des opacités nodulaires plus ou moins confluentes, des infiltrations périfoncho-vasculaires et des cavitations. Les lésions touchent avec une grande prédilection le segment postérieur du lobe supérieur ou le segment apical du lobe inférieur. Une rétraction des lobes supérieurs témoigne de l'ancienneté de l'infection. Les calcifications ne sont observées que sur les lésions anciennes. D'autres aspects radiologiques peuvent être observés. Les images miliaires nécessitent, pour être vues, un cliché de bonne qualité. Chez les sujets fortement immunodéprimés, le cliché peut être quasiment normal, malgré une tuberculose pulmonaire. En fin, un foyer quiescent, pulmonaire ou extra-pulmonaire, peut évoluer pour son propre compte (tuberculose rénale) ou être à l'origine d'une généralisation hémotogène de l'infection (miliaire du sujet âgé) lors d'une baisse des défenses immunitaires.

(Berche *et al* ; 1988).

11.3. Le diagnostic indirect

11.3.1. L'intradermo-réaction (IDR)

Consiste à injecter de la tuberculine purifiée IP48 par voie intradermique sur la face antérieure de l'avant-bras, à raison de 1/10ml en piquant la peau de façon tangentielle avec une aiguille fine. La lecture se fait 72 H après. **(Huebner et al, 1993).**

➤ **Interprétation**

Elle est basée sur l'analyse des histogrammes des diamètres d'induration. Les valeurs des diamètres présentent une répartition bimodale, mais avec une valeur d'incrémentation variable selon les tuberculines utilisées, leur concentration et les populations testées. Les sujets sans risque d'infection tuberculeuse ont des valeurs inférieures à la valeur seuil, les patients tuberculeux et ceux ayant une TB-infection latente présentent des valeurs supérieures au seuil et ont donc un TCT positif. Même si les diamètres de la réaction diminuent au cours du temps après la sensibilisation initiale, ils demeurent dans les limites du seuil de la positivité.

(Lagrange, 2007).

11.3.2. La vaccination par BCG

Le BCG dérive d'une culture vivante de *Mycobacterium bovis* ; cette souche rendue atténuée, a été développée en faisant croître *M.bovis* sur milieu contenant des concentrations de bile. Après 13 ans, cette souche s'était adaptée à croître en présence de bile et était devenue suffisamment atténué, pour être utilisable comme vaccin contre la tuberculose.

(Goolet, 1989).

11.3.3. Lanked immunosorbent assay (ELISA)

La technique d'ELISA permet de révéler la présence des IgM par utilisation des glycolipides purifiés du complexe antigénique se *M. tuberculosis et du BCG.*

(Verbon et al ; 1993).

Les IgM ET les IgG sont mis en évidence par l'addition du sérum à des plaques couvertes des antigènes A60. Après l'addition des anticorps antihumains et le développement de la coloration, la densité optique sera mesurée. L'utilisation d'ELISA avec antigène A 60 peut faciliter énormément le diagnostic de la tuberculose chez le patient tuberculeux présentant des crachats négatifs **(Charpin et al ; 1990 et Delacourt et al;1993).**

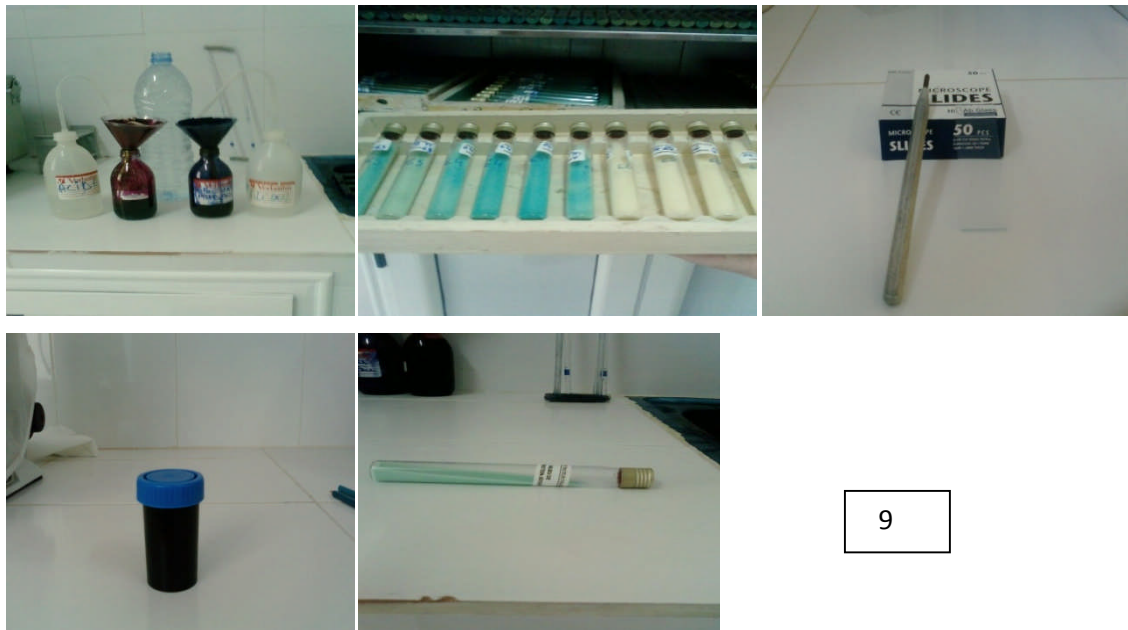
I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Matériel

I. 1.2. Matériel non biologiques

❖ Petit matériel

- Une anse de platine.
- Porte lame.
- Un flambeau (tige métallique avec une boule de coton imprégné d'alcool).
- Des lames en verres.
- Des flacons pissettes en plastique de 1000 ml pour le stockage de l'acide sulfurique.
- Alcool à 90°, la fuchsine et le bleu de méthylène.
- Gants.
- Des portoirs.
- Des tubes stériles à centrifugation.
- Des pipettes Pasteur.
- Une poire.
- Des plateaux pour placer les tubes de culture.
- Tubes de milieu de culture.
- Cristallisateur.



9

Figures N°9 : Quelques matériels utilisés au niveau de laboratoire (personnel).

❖ Appareillage

- Une hotte aspirante avec rayonnement d'UV porte à l'intérieur le bec de Bunsen.
- Une centrifugeuse.
- Une étuve bactériologique.
- Un microscope optique.
- Un bec bunsen placé à l'intérieur de la hotte.
- Réfrigérateur.
- Une minuterie.



10

Figures N° 10 : Quelques appareils utilisés au niveau de laboratoire.

I.1.2. Matériels biologiques

• Prélèvements

La souche de BK collectée de différents prélèvements pathologique : urines, pus, crachats, liquide plural, biopsie liquide ganglionnaire, prélèvement nasal et LCR

Prévenant de deux types de malades :

- Malades hospitalisés.
- Malades externes

a. Préparation de patient

- Faire le prélèvement dans l'heure qui suit le levé.
- Expliquer au patient la nécessité d'obtenir du mucus bronchique par un effort de toux profonde et non pas un peu de salive de l'arrière gorge.

b.Types de prélèvements

b.1.Les prélèvements d'origine pulmonaire

o les crachats

Ils représentent 80 à 85% des prélèvements qui parviennent au laboratoire. Le biologiste doit remettre au patient un flacon stérile en matière plastique à usage unique. L'ouverture de ce flacon doit être suffisante, les flacons de type pilulier de 50 ml conviennent parfaitement.

Les crachats seront prélevés :

- Le matin.
- Chez un sujet qui se sera préalablement rincé la bouche à l'eau.
- A la suite d'un effort de toux, qui ramène les sécrétions bronchiques accumulées pendant la nuit.
- Un volume de 5 ml représente une quantité convenable, le minimum exigé est de 2 ml.
- Le prélèvement est rapidement acheminé vers le laboratoire, sinon il sera conservé à + 4°C au réfrigérateur.
- Un séjour de 24 ou 48 heures à cette température n'altère pas la qualité du résultat final.

o Le tubage gastrique

Il consiste à prélever directement dans l'estomac, les sécrétions bronchiques qui ont été dégluties inconsciemment pendant le sommeil.

Cette épreuve sera réalisée chez un sujet :

- maintenu à jeun.
- alité depuis la veille au soir.
- le plus tôt possible après le réveil.

On utilise une sonde à usage unique, présentant, à son extrémité distale, des perforations nécessaires au passage du liquide et, à son extrémité proximale, un embout auquel s'adapte la seringue nécessaire à l'aspiration. Sur ces sondes, des repères indiquent, par rapport aux arcades dentaires, les distances correspondant au cardia et au pyllore. Quand la sonde est dans l'estomac, on monte une seringue et le liquide gastrique est aspiré. Il est ensuite centrifugé à 3 000 tours/mn pendant 20 minutes. C'est le culot obtenu, ramené à un volume de 2 ml, qui sera traité pour la décontamination.

b.2. Autres prélèvements (extra-pulmonaire)

○ Liquides d'épanchement

Les liquides pleuraux, d'ascite et articulaires, s'ils sont clairs et si la quantité est suffisante, sont centrifugés et l'ensemencement comme le frottis sont réalisés sur le culot.

Si le liquide est trouble, voire purulent, le frottis est réalisé directement et l'ensemencement consiste à inoculer les tubes de milieu à l'œuf sans autre traitement qu'une dilution du produit dans 5 à 6 parties d'eau distillée stérile. Cette opération aura pour but de diluer certains facteurs inhibiteurs. Par ailleurs, trois autres tubes sont ensemencés après traitement décontaminant.

○ Pus d'abcès

Les problèmes posés par ces prélèvements sont les mêmes que ceux qui viennent d'être envisagés pour les liquides d'épanchement purulents. Les modalités de leur traitement seront donc les mêmes.

○ Urines

Le prélèvement doit recueillir la totalité des urines émises au lever après restriction hydrique la veille au soir. Il est acheminé rapidement au laboratoire. On réalise la recherche de mycobactéries dans les urines après avoir vérifié la présence de leucocytes et l'absence de bactéries banales.

Le prélèvement est centrifugé dans un tube conique pendant 20 minutes. Le surnageant est éliminé, seul un culot d'environ 2 ml subit le traitement décontaminant.

L'examen sera effectué trois jours de suite.

○ Liquide céphalo-rachidien (LCR)

Trois millilitres sont nécessaires pour réaliser convenablement l'ensemble des investigations nécessaires. Le liquide est prélevé stérilement. Il est clair, tout au plus "dépoli". Dès sa réception, le biologiste le soumet à l'examen cytologique classique quantitatif et qualitatif, et à un ensemencement sur milieux pour la recherche des bactéries usuelles.

Ensuite, directement on ensemence les milieux de culture appropriés.

Enfin, le reste est soumis à une centrifugation de 20 minutes (le surnageant est recueilli pour les examens chimiques), le culot est étalé sur une lame pour la coloration.

○ Selles

Les infections intestinales survenant chez les malades immunodéprimés ont donné un regain d'actualité à la recherche des **mycobactéries** dans les selles. Le prélèvement portera sur des matières fécales fraîchement émises et recueillies dans un flaconnage propre.

❖ **Fiche de renseignement**

Elle doit être correctement remplie et comporte les renseignements correspondant le patient par exemple le nom et prénom du malade.

❖ **Enregistrement des prélèvements**

Une fois arrivée au laboratoire, les prélèvements sont enregistrés sur le registre du laboratoire (registre de BK), où on inscrit :

- le nom et le prénom du malade.
- Le numéro d'ordre qui lui correspond (inscrit sur le registre la fiche de renseignement, la lame et les tubes de culture).
- La nature du prélèvement.
- Le service.
- Résultat (examen direct + culture).

I.2. Méthodes

I.2.1. L'examen microscopique

a. Coloration de Ziehl-Neelsen

- **But** : C'est une technique simple de détection des BAAR.
- **Principe** : Les bactéries acido-résistantes diffèrent de toutes les autres bactéries en ceci : une fois qu'elles ont été colorées par la fuchsine basique concentrée, chaude, il est impossible de les décolorer par les acides minéraux ou par des mélanges d'acide et éthanol. Citons parmi ces bactéries *Mycobacterium tuberculosis* (Jean et Paul, 1999).

Voici comment procéder:

° fixer le frottis sur la lame ;



11

° recouvrir le frottis fixé de fuchsine phéniqué pendant 3 minutes ;



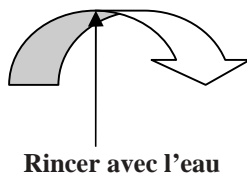
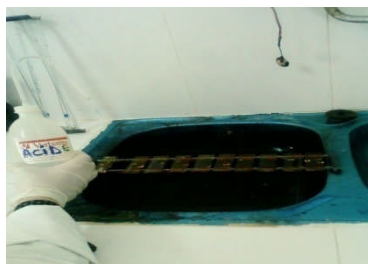
12

° chauffer, rincer à l'eau courante ;



13

° décolorer avec un mélange acide-alcool pendant 3 à 5 secondes ;



14

° colorer au bleu de méthylène pendant 30 secondes ;



15

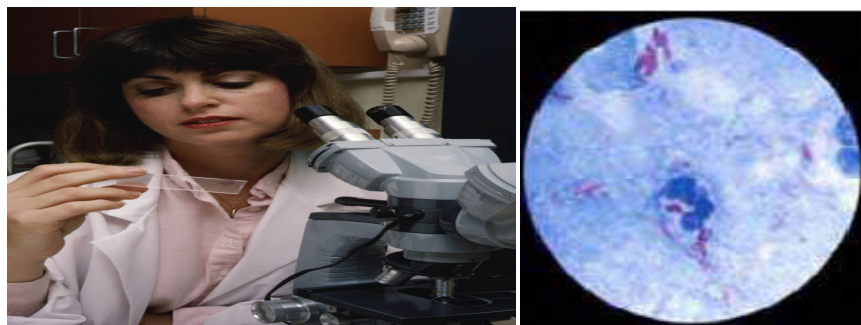
° rincer de nouveau à l'eau courante ;



16

Figures 11- 16 : Méthode de coloration de Ziel –Neelsen (personnel).

° observer au microscope (utiliser l’objectif à immersion x 100).



17

Figure 17 : Observation de bacille de Koch sous au microscope optique sous formes bâtonnée rouge (Anonyme 2).

- Les bacilles apparaissent comme des chapelets de bâtonnets rouges, de
- 2 à 4 μm de longueur et de 0,2 à 0,4 μm de largeur.

b. Notation des résultats

Le nombre des bacilles observés dans un frottis reflète la gravité de la maladie et la contagiosité du malade. Il est donc important de noter le nombre de bacilles observés sur chaque frottis. Le tableau suivant donne la méthode standard de notation au grossissement x 100.

Tableau II: Lecture des résultats effectués lors de la coloration de Ziel- Neels

(Harries, 1996).

Nombre de bacilles	Notation du résultat
Aucun BAAR pour 100 champs à l’objectif à immersion	0
1-9 BAAR pour 100 champs à l’objectif à immersion	Rares
10-99 BAAR pour 100 champs à l’objectif à immersion	+ (1+)
1-10 BAAR pour 100 champs à l’objectif à immersion	++ (2+)
> 10 BAAR pour 100 champs à l’objectif à immersion	+++ (3+)

c. Type des résultats

➤ **Lame positive**

- Si la lame est riche, on examine quelques champs et on ordonne une moyenne pour un champ (+++).
- Si la lame est moyennement riche, la lecture portera sur toute la lame (+).
- Si la lame est pauvre en bacilles, la lecture se fait sur toute la lame, c'est –à– dire les trois longueurs (**rare**).

➤ **Lame négative**

Sur 300 champs microscopiques aucun bacille n'a été visualisé, le résultat inscrit sera : **bacilloscopie négative**.

➤ **Lame douteuse**

Sur 300 champs microscopiques, 5BAAR en été visualisé, le résultat inscrit sera : **bacilloscopie douteuse**.

I.2.2.Culture

Un milieu de culture a été utilisé pour l'isolement la souche *M.tuberculosis*, il s'agit de la gélose **Lowenstein-Jensen**, la composition de ce milieu est donné en **Annexe N° 1**.

Tandis que les prélèvements contaminés nécessitent une décontamination préalable avant leur mise en culture.

a. **Décontamination**

a.1. **Méthode de Petroff à la soude**

Dans un tube à centrifuger hermétique introduire :

- Expectorations 1 volume.
- Soude 2 à 4 volumes.
- Agiter, incubé 30mn à 37°C.
- Neutraliser par l'acide dilué en présence de tournesol.
- Centrifuger 20 mn à 1500G.
- Resuspendre le culot dans quelques gouttes de surnageant.

a.2. **Méthode de la culture**

1. Inonder la surface des milieux avec 0,2 à 0,5 d'inoculum.
2. Boucher chaque tube inonder et les remettre en position verticale à l'étuve.
3. l' incubation à 37°C pendant 72jours.

4. Observer chaque tube une fois par semaine pendant 2 mois au moins.

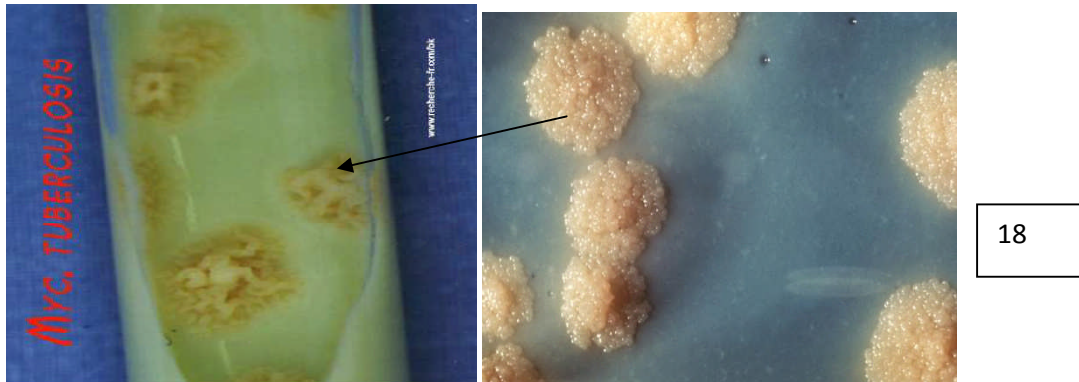


Figure N° 18 : Aspect de *M.tuberculosis* sur le milieu Lowenstein-Jensen sous forme d'un chou-fleur (Anonyme2).

- **Aspects des colonies sur milieu Loewenstein Jensen**
 - **Colonies R** : rugueuses sèches, mates, crèmes à chamois 5à 10 mm, se dissociant difficilement dans l'eau, aspect en choux fleur sont des vieilles colonies.
 - **Colonies S** : lisses, humides blanches de 1à 3 mm, se dissociant biens dansl'eau.
- **Délais de culture sur Loewenstein Jensen**
 - **Culture eugonique** : 2 à 3 semaines.
 - **Culture dysgonique** : 4 à 8 semaines.
 - **Culture rapide** : 1 à 2 semaines.
- **Expression des résultats**
 - **Cas où la culture est positive**
 - On compte le nombre de colonies par tube et on donne un résultat quantitatif.
 - Si les colonies sont incomptables et forment un tapis uniforme sur la totalité de la surface du tube, on répond par : culture positive confluyente.
 - **Cas où la culture est négative**
 - Au vingt- huitièmes (28) jours, on donne une réponse négative mais on remet les tubes à l'étuve pendant 15 jours encours.
 - Au quarante-deuxième jour, si la culture devient positive, on donne un résultat quantitatif ; si elle est toujours négative on remet les tubes à

l'étuve pour un mois supplémentaire au totale soixante-douze (72) jours.

Conclusion partielle

L'examen microscopique et la culture restent à l'heure actuelle les examens permettant le diagnostic de certitude de la tuberculose. Les techniques plus sophistiquées, en particulier celles de biologie moléculaire, sont peu efficaces et n'ont pas leur place pour la prise en charge des malades dans notre pays (Algérie) à forte prévalence tuberculeuse.

Pour les tuberculoses pulmonaires

L'examen de choix est l'examen microscopique. Une série de trois échantillons (parfois 2 ou 3 séries) sera demandée. Pour les cas suspects non prouvés par les examens microscopiques, trois cultures au moins seront faites lorsqu'un laboratoire pratiquant cet examen est accessible.

Pour les tuberculoses extra-pulmonaires,

L'examen microscopique direct est le plus souvent négatif. Le diagnostic peut éventuellement être confirmé par la culture d'un produit pathologique ou par l'examen anatomopathologique d'une biopsie du tissu ou de l'organe atteint.

1. Résultats et discussion

Cette étude rétrospective concerne tous les cas de tuberculose déclarés au niveau de trois unités centrales de traitement des maladies respiratoires (UCTMR) (Bejaia, Akbou et Kharrata) de la willaya de Bejaia durant l'année 2011.

1.2. Répartition de la tuberculose

- **Selon la région**

318 cas de tuberculose ont été enregistrés durant l'année 2011, dont 174 (54,71%) au niveau l'UCTMR de Bejaia. Cette forte proportion au niveau l'UCTMR de Bejaia est probablement liée à l'arrivée de personnes étrangères dans la ville, notamment à l'université et en résidences universitaires.

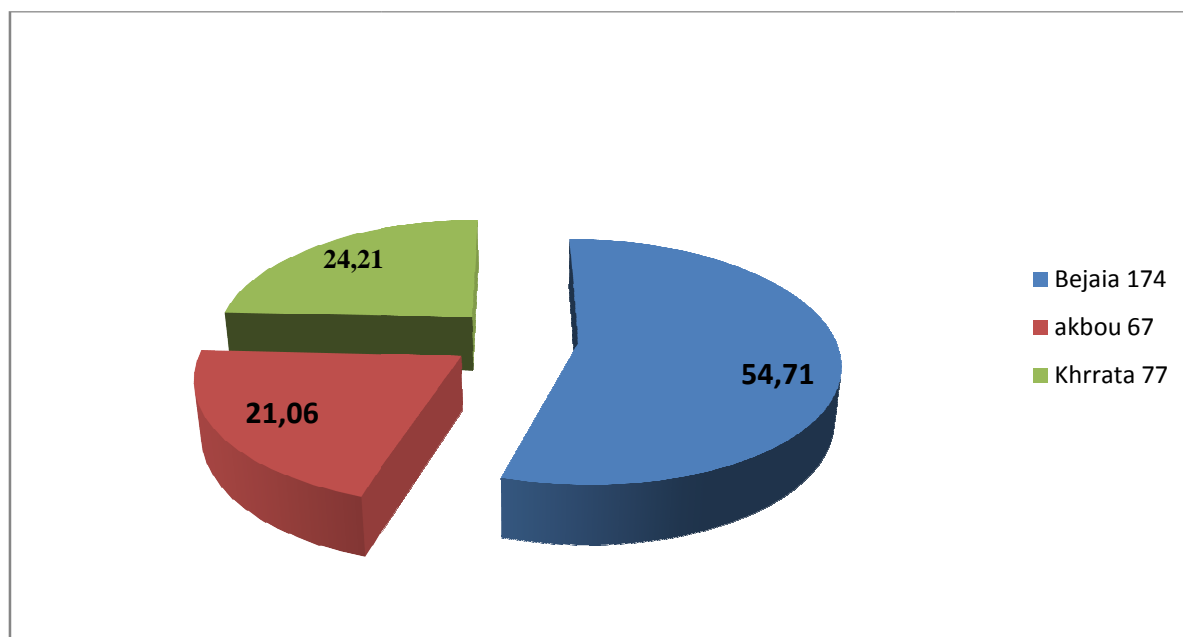


Figure N° 18: Répartition de la tuberculose dans les trois régions (Bejaia, Akbou et Kharrata).

- **Selon les saisons**

La distribution saisonnière n'est pas homogène car on voit que la tuberculose est plus fréquente en hiver (28,30%), moins en automne (22,64%) et stationnaire en été et au printemps (24,52%). Par rapport aux pourcentages obtenus, on induit que la distribution

saisonnaire est liée aux facteurs de transmission de la maladie de la tuberculose (influence de l'humidité, toux, grippe, maladies respiratoires).

Tableau III: Répartition de la tuberculose par saison.

Saisons	Automne	Hiver	Printemps	Eté
Effectifs	72 (22,64%)	90 (28,30%)	78 (24,52%)	78 (24,52%)

- **Selon le sexe**

La répartition de la maladie de la tuberculose dans les trois UCTMR (**Bejaia, Akbou et Kharrata**) en fonction du sexe est différemment apprécié dans la littérature. Pour la majorité des auteurs elle ne présente aucun intérêt, et l'infection peut toucher indifféremment les deux sexes.

184 cas ont été observés chez le sexe masculin (M) et 134 chez le sexe féminin (F) et cela dû à plusieurs facteurs prédisposant tels que la prise d'alcool, pauvreté, maladies chroniques....ect.

Tableau IV: la répartition De la tuberculose en fonction de sexe.

	C1	C2	C3	Total
F	61	30	43	134
M	113	38	34	184
Total	174	68	77	318

C1 : UCTMR de Bejaia

C2 : UCTMR d'Akbou

C3 : UCTMR de Kharrata

- **Selon le type de localisation**

Le poumon est le lieu privilégié de la tuberculose, représentant 160 (50,31%) cas de tuberculose au niveau des trois UCTMR.

La tuberculose extrapulmonaire présente 158 (49,68%) cas qui sont presque proches à la

valeur de la localisation pulmonaire, mais en réalité cette valeur (158) présente aussi les cas non prouvés, au cours de la biopsie et de la ponction, certains cas sont négatifs à cause de doutes des médecins pour éviter les faux traitements et endors de la réalisation de la biopsie et la ponction, il y a la contamination des prélèvements par des causes diverses, c'est pour cela que cette valeur est proche à celle de localisation pulmonaire.

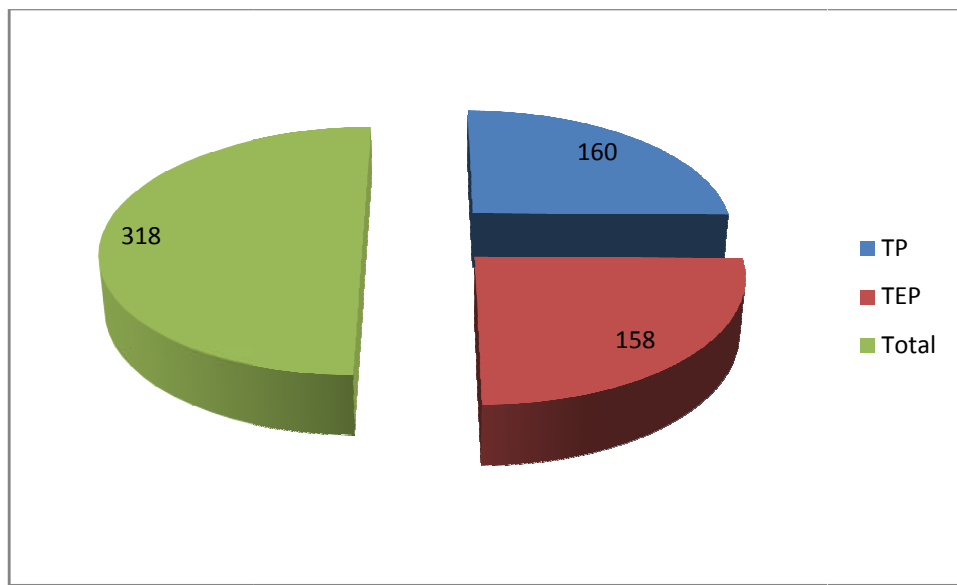


Figure N°19 : Répartition de la tuberculose selon la localisation pulmonaire de BK.

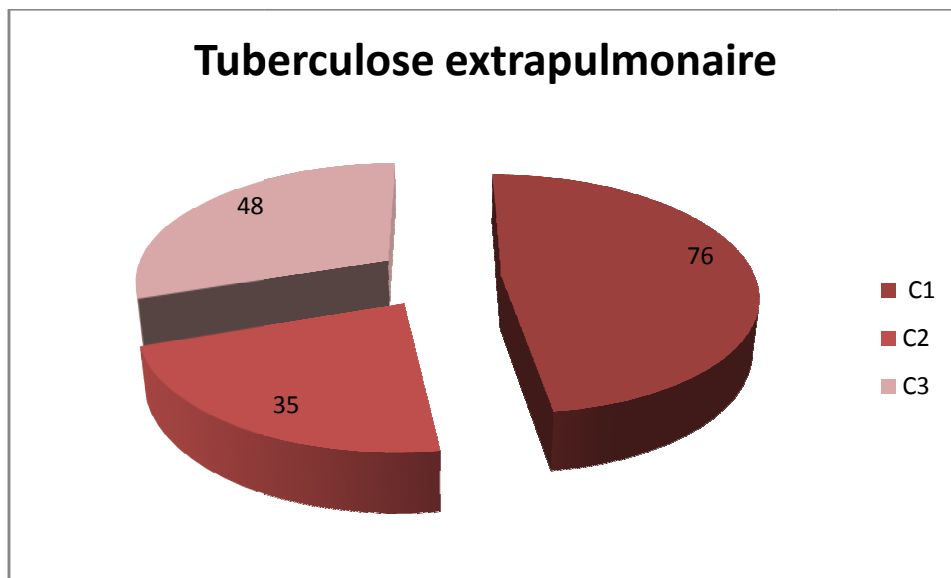


Figure N° 20: Répartition de la tuberculose selon la localisation extrapulmonaire de BK.

- Selon nouveau cas et la rechute

Malgré que la tuberculose est la première maladie qui occupe une place prioritaire dans le programme de santé dans notre pays, mais on remarque qu'il y a deux cas de rechute dans les trois régions, cela est probablement dû à ce qu'il n'y a pas un bon suivi médical de patients, le patient quitte le traitement avant six mois et les antituberculeux ne sont pas de bonne efficacité et de qualité.

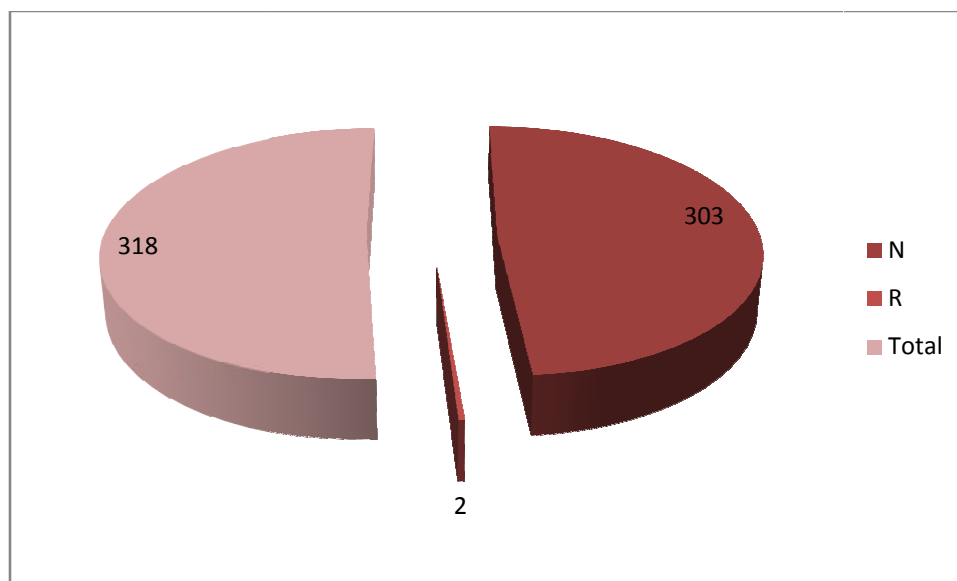


Figure N° 21: Répartition de la tuberculose selon nouveaux cas et la rechute.

Conclusion

Conclusion

La tuberculose reste un problème majeur de la santé publique dont elle occupe une place prioritaire dans le programme de santé en Algérie. Pour éliminer la tuberculose on doit contrôler et éliminer son agent causal qui est connu, par tous les moyens existants de nos jours :

- La bactériologie qui reste toujours un moyen très important dans la lutte antituberculeuse par son isolement et l'identification de la mycobactérie en cause, d'en mesurer la sensibilité aux antituberculeux, elle affirme le diagnostic de la tuberculose pulmonaire et extra pulmonaire.
- Un traitement et une surveillance régulière pour empêcher l'apparition des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques.
- Dépistage des cas de la tuberculose contagieuse.
- La vaccination par le B.C.G une protection des efficace.

L'examen microscopique et la culture restent à l'heure actuelle les examens permettant le diagnostic de certitude de la tuberculose. Les techniques plus sophistiquées, en particulier celles de biologie moléculaire, sont peu efficaces et n'ont pas leur place pour la prise en charge des malades dans notre pays (Algérie) à forte prévalence tuberculeuse.

Pour la tuberculose pulmonaire, l'examen de choix est l'examen microscopique. Une série de trois échantillons (parfois 2 ou 3 séries) sera demandée. Pour les cas suspects non prouvés par les examens microscopiques, trois cultures au moins seront faites lorsqu'un laboratoire pratiquant cet examen est accessible.

Pour les tuberculoses extra-pulmonaires, l'examen microscopique direct est le plus souvent négatif. Le diagnostic peut éventuellement être confirmé par la culture d'un produit pathologique ou par l'examen anatomopathologique d'une biopsie du tissu ou de l'organe atteint.

Suite à la situation actuelle nous espérons pour l'avenir que les efforts doivent se tourner vers la formation des microscopistes, vers le suivi régulier des patients et surtout, vers l'amélioration de la qualité du diagnostic par application de nouvelles techniques comme les sondes nucléiques et les méthodes d'amplicification génique.

Bibliographie

A

Ait Abdessalem A. (1970). Microbiologie. Edition : Institut des sciences médicales ; INESSM. Alger. pp 1-31. **Anonyme, (2003).** Bactériologie, 2003.pp105-122.

Anonyme. (2006) .Situation épidémiologique de la tuberculose en Algérie. pp 4 -24.

Anonyme. (2012). Mycobactéries.

Anonyme1 : www.bacterion.cict.fr/bacdico/htmlmycobacteriumtuberculosis.

Anonyme 2 : www.py.guillaume1.free.fr/pierre-yve.

Anonyme 3 : <http://www.invs.santé.fr/BEh/1997/97Janvier/page2.html>.

Askenasi R, Even-Adin D. (1985). Manuel de médecine. Edition: Maloine.Paris.

Avril JL, Dabernot H, Denis F, Monteil H. (1992). Bactériologie chimique.2^{ème} édition, édition : marketing. Paris.pp 436-442

B

Bensenouci A, Mazoni M. (1995). Elément de pédiatrie.

Berche P, Gaillard JL & Simonet M. (1988).Bactériologies. Edition : Paris. pp 415-648.

Blasco P, Bonte L, Frigati L, Humblet P, Marita A & Sisaire A. (2010).Tuberculose.
pp 27 -164.

Boulahbal F. (1985). Bactériologie de tuberculose. Aspects diagnostiques
thérapeutiques et organisationnels. Office des publications universitaires. Alger. Pp 2-82

Byrd T, Ziner P. (2001).Tuberculose Meningitis.Curr Treat Options Neurol.pp 427-432

C

Charpin D, Herbault M, Gerandan M J, Saadjian M, De Micco F, Arnaud A, Verboet D & Charpin J. (1990). Value of active pulmonary tuberculosis. *Am.Rev.Resp.Dis.* 142 :380-384

Chatelier JC. (2009). Bacille de Koch (la tuberculose). pp 2-9.

Chretien J. (1993). La lutte antituberculeuse. Impératifs et aperçus actuels. *Bull Acad.Natl Med.* 17, pp 893-916.

Ciml. (2006). La Tuberculose. pp 1-41.

Couture, B. (1990). Antibiothérapie. Edition : Vigot. pp287 -358.

D

Daffe M, Drapper P. (1998) .The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. *Advances in Microbial Physiology.* 39, p 131-203.

Delacourt C, Gobin J , Gaillard J L, De Blic, Veron M & Scheinmann P. (1993). Value of ELISA using antigen Go for diagnosis of tuberculosis in children. *Chest.* 104 :pp 393-398.

Delarras A C. (1999). Bacterologie .3^{ème} édition: paris.

F

Fasquelle R. (1974). Elément de bactériologie médicale. 9^{ème} édition : Flammarion Médecine-science. Paris .pp 162-167

Freney J, Renaud F, Whansen C & Bollet. (1994) .Bactériologie III. 2^{ème} édition.

G

Gérard M. (2005). La tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*

Goolet G. Nature et science. Edition Castella. 25.

Grosset J. (1995). Place des examens microbiologiques et anatomopathologiques dans la décision diagnostique et thérapeutique. *Prat.Inf.Long.* 25 : pp 327-333.

H

- **Harrie A ,Maher D ,Raviglione M ,Chanlet P ,Nunn P,Van Praag E .(1996) .Tuberculose et VIH.Mannuel clinique .OMS.**
- **Huebner RE et al. (1993) .The tuberculin skin test. Clin Infect Dis, 17:pp 968-75.**
-
- **Huchon G., 1994. Tuberculose .Edition : Estem.**
-
- **Huchon P. (1997).Encyclopédie médicochirurgicale : « maladie infectieuse » 8-038-C-10.**
-

J

John K, Spitznagel R, William R & Jacobs Jr. (1999).Microbiologie et pathologie infection. Edition : Boeck et Larcier. Paris.pp 316-327

L

- **Lagrange PH. (2007).** Les nouveaux tests immunologiques dans le diagnostic de la tuberculose :Revmal respir . 24, pp 453-72.
- **Le Minor L, Veron M. (1990).**Bactériologie médicale.2^{ème} édition.Flammarion médecine-science.

M

- **Med L. (1999).** la tuberculose beaucoup de bruit pour rien ou à nouveau réellement un problème.pp 1-4.

- **McNeil MR, Brennan PJ. (1991).** Structure, function and biogenesis of the cell envelope of mycobacteria in relation to bacterial physiology, pathogenesis and drug resistance; some thoughts and possibilities arising from recent structural information. Research in Microbiology. 142, pp 451-463.

- **Michael T. Madigan, John M & Martinko. (2007).**Brock Biologie des micro-organismes.11^{ème} édition. Paris.pp 864-1047.
- **Michel G. (2005).**La tuberculose, Mycobacterium tuberculosis. pp 6-38.

Guide pratique à l'usage des médecins infirmiers, techniciens de laboratoire et auxiliaires de santé.

Titre :(La tuberculose).

N

Nauciel. (200).Abrégés, connaissances et pratique (collection). Bactériologie médicale. Edition : Masson.

P

- **Pebret F, Veron M. (1995).**Pathologie infectieuse et démarche de soins .3^{ème} –édition.
- **Pilet C, Bourdon JL, Toma B, Marchal N & Ballaster C. (1979) .**Bactériologie médicale et vétérinaire. Edition : Doin .pp 276-437

U

- **Unknown. (2000).**Le diagnostic bactériologique de la tuberculose. pp 1-5.

S

Schaechter, Med off, Eisentein, De Boeck université. (1999).Microbiologie et pathologie infectieuse. 02,

- **Slwyn Pa , Hartel D, Lewis Va et al., 1989. ,** A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus
- infection, pp : 545-550.

T

Tunon De Lara J M. (2004) .Pneumologie. Edition : Marketing S.A. Paris. pp 194-207

V

Verbon A, Weberling G J , Kujgen S & Speelman P.(1993). Evaluation of different tests for the serodiagnosis of tuberculosis and the use of likelihood ratios in serology. An .Rev.Resp.Dis.148 : 378-384.

Vincent V. (1993). Diagnostic bactériologique de la tuberculose : nouvelles perspectives. Ann. Inst. Pasteur.4 : pp 167-172.

W

Waecker Nj. (2002).Tuberculose Meningitis.Curr Treat Options.pp 249-257

Y

Yella D. (2001).Diagnostic bactériologique de la tuberculose. Institut Pasteur d'Alger.

Résumé :

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

Mots clés : Tuberculose ; Diagnostic ; épidémiologique ; antituberculeux ; résistance .

Abstract :

The diagnosis of tuberculosis is considered on general signs, respiratory or extra-respiratory clinical signs, complementary examinations or because of a particular context. Once the diagnosis considered, respiratory isolation must be implemented during the short diagnostic period. This period must either rule out the diagnosis, or lead to treating contagious forms within a week and non-contagious forms, in particular extra-respiratory presentations, within a month. Treating, before or after diagnosis confirmation, is preceded by a clinical and biological evaluation having for objective to determine the infection site, to assess supporting factors, in particular immunodepression, contra-indications to some antimycobacterial drugs, elements suggesting resistance, and psychosocial elements which could decrease the efficiency of the treatment.

Keywords: Tuberculosis; Diagnosis ; epidemiologic ; antimycobacterial ; resistance.
