



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Caractérisation épidémiologique de la tuberculose au niveau du
laboratoire Filab d'Analyses médicales à Fès**

Présenté par : HRIFECH Jihad

Encadré par : Pr. EL FARRICHA Omar (FST Fès)

Dr. FILALI BABA Ahmed (Laboratoire Filab-Fès)

Soutenu le : 12 /06/2019

Devant le jury composé de :

- **Pr. EL FARRICHA Omar**
- **Pr. BEKHTI Khadija**
- **Dr. FILALI BABA Ahmed**

Stage effectué à : Laboratoire Filab d'Analyses médicales
Année universitaire 2018-2019

Remerciement

Au terme de ce travail de fin d'études, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer mes remerciements.

À « Allah », le tout puissant, qui m'a accordés le courage et la patience pour élaborer ce modeste travail.

Tout d'abord, Un grand merci pour Monsieur EL FARRICHA Omar, l'encadrant de ce projet, pour son aide précieuse, ses conseils et pour le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.

Je remercie également mon professeur Mme BEKHTI Khadija pour sa présence afin d'évaluer mon travail.

Je voudrais présenter, notre remerciement et notre vive gratitude à Monsieur Ahmed Filali Baba médecin biologiste au sein de laboratoire Filab d'Analyses médicales à Fès, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et d'examiner mon modeste travail.

Je remercie également Mme Najlae Aznag (Technicien au sein de laboratoire Filab d'Analyses médicales à Fès).

En fin, je souhaite adresser tout notre remerciement aux personnes qui nous ont apporté leur soutien et qui ont ainsi contribué à la réalisation de ce projet.



Dédicace

A mon très cher père Ahmed

A Ma très chère Mère Mannana

Ce modeste travail est le fruit de tous sacrifices déployés pour notre éducation.

Par vos sacrifices et vos bons soins, vous m'avez donné le courage pour affronter tous les obstacles, et supporter toutes les difficultés.

Nulle dédicace ne pourrait refléter ma profonde reconnaissance. Je vous dois tout, puisse dieu vous préserver et vous accorder, santé et bonheur.

A mon très cher oncle Radi

A mon très cher oncle Mohammed

A Mes chères tantes rabia et Asia.

Vos grands cœurs, vos qualités humaines m'ont toujours impressionné

A ma chère sœur Nawal et A ma chère amie Alice

Qui ont été toujours à mes côtés.



Présentation de l'établissement d'accueil

Mon stage a réalisé au sein du Laboratoire Filab d'Analyses médicales. Situé à côté de bureaux Anouar, Avenue Slaoui (à côté du cinéma Astor)-Fès, Il a été créé en 2017.

Le laboratoire se compose de :

- ❖ **Salle d'accueil**
- ❖ **Deux salles de prélèvement**
- ❖ **Local administratif**
- ❖ **Plateau technique (laboratoire)**

Ce laboratoire réalise une large gamme d'analyses de biologie médicale dans les différents domaines :

- ❖ **Bactériologie, Mycologie, Virologie et Parasitologie.**
- ❖ **Spermiologie, Biologie de la reproduction.**
- ❖ **Hématologie.**
- ❖ **Immunologie.**
- ❖ **Hémostase.**
- ❖ **Biochimie.**
- ❖ **Hormonologie.**

Liste d'abréviations

AG : Arabinogalactane

BAAR : Bacille Acido-Alcool Résistant

BCG : vaccin Bilié de Calmette et Guérin

BK : Bacille de Koch

HRZE : Isoniade (H), Rifampicine (R), Pyrazianamide (Z), Ethambutol (E)

LCR : Liquide Céphalo Rachidien

LJ : Löwenstein Jensen

MAG : Mycolyl-Arabinogalactane-Peptidoglycane

MNT : Mycobactéries Non Tuberculeux

MTB : Mycobacterium tuberculosis

M. tuberculosis : Mycobacterium tuberculosis

MR : Multi- Résistance

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymérase Chain Réaction

PG : Peptidoglycane

SIDA : Syndrome Immunodéficience Acquise

TB : Tuberculose

TBE : Tuberculose Extra-Pulmonaire

TBP : Tuberculose Pulmonaire

Tpm : temps par minute

VIH : Virus Immunodéficience Humaine

XR : Ultra Résistance

PNTB : Programme National de lutte antituberculeuse

ZN : Ziehl Neelsen

Liste de tableaux

Tableau 1:Taxonomie du Mycobactérium tuberculosis	13
Tableau 2:Le code de lecture des frottis colorés par la technique de Ziehl-Neelsen.	31
Tableau 3:Répartition des échantillons selon leur nature.....	34

Liste des figures

Figure 1 : Les plus fréquentes localisations anatomiques de la tuberculose	11
Figure 3 : Répartition proportionnelle des cas de TB rapportés en 2016 par région.....	13
Figure 4: Structure schématique de l'enveloppe de M.tuberculosis	15
Figure 5: Bacille de koch en microscope optique.....	15
Figure 6 : Colonies de M .tuberculosis sur milieu solide (Löewenstein-Jensen).	16
Figure 7:Transmission de la tuberculose par la voie aérienne.....	17
Figure8: Adénopathie cervicale volumineuse.	19
Figure 9:Radiographie montrant une nodule pulmonaire.....	21
Figure 10:Radiographie montrant une caverne pulmonaire.	21
Figure 11 : Schéma représentant le récipient idéal pour recueillir les échantillons	25
Figure 12:Photographie représente les différents aspects du crachat.	26
Figure 13:Photographie de l'étalement du crachat prise à l'unité du BK (Filab).	28
Figure 14:Photographies des étapes de la coloration à la fuchsine phénique, prises au laboratoire Filab.	29
Figure 15:Photographies des étapes de la décoloration par l'alcool-acide prises au laboratoire Filab..	29
Figure 16: Photographies des étapes de la contre-coloration au bleu de méthylène au laboratoire Filab.	30
Figure 18:Inoculation de la tuberculine par voie intradermique à la face antérieure de l'avant-bras ...	24
Figure 19:Photographies de l'examen microscopique (grossissement 10x100) de deux lames différentes prise d'un microscope optique au laboratoire Filab : a).Présence de BAARs(ZN positive) :b). absence des BAARs (ZN négative)	35
Figure 20:Photographies des résultats de la culture sur milieu LOEWENTIN-JENSEN : a) culture positive: b) culture négative, prises au laboratoire Filab.....	35
Figure 21:Nombre des cas positifs, négatifs de BK dans les prélèvements en 2018-2019.	36
Figure 22: Répartitio de TB selon les tranches d'âge.....	36

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicaces

Liste de tableaux

Liste des abréviations

Listes des figures

Résumé

Introduction	1
Partie 1 :Etude bibliographique	
1-Définition de la tuberculose	2
2-Epidémiologie de la tuberculose	11
2-1-Tuberculose dans le monde.....	12
2-2-Tuberculose au Maroc.....	13
3-Classification de M .tuberculosis	13
4-Caractères de Mycobactérium .tuberculosis	14
4-1- Structure de l'enveloppe	14
4-2-Caractères morphologiques.....	15
4-3-Caractères génétique	15
4-4- Caractères biochimiques	16
4-5-Caractères culturels.....	16
5- Mode de transmission	17
5-1-La voie directe.....	17
5-2-La voie indirecte	18
6-Physiopathologie de Mycobctérium.tuberculosis	18
7- Formes de la tuberculose	19
7-1-Forme pulmonaire	19
7-2- Forme extra-pulmonaire.....	19
8-Facteurs de risque de la tuberculose	20
9-Symptômes de la tuberculose.....	20
10-Diagnostic de la tuberculose	21
10-1-Tuberculose active (la TB pulmonaire.....	21
10-1-1-Technique de coloration.....	21
10-1-2-Culture mycobactérienne	22

10-2-Test de la tuberculine.....	14
11-Traitements	23
11-1-Traitement prophylactique	23
11-2-Traitement curatif.....	23
Partie 2 : Matériel et méthodes	24
1-Lieu et période de l'étude.....	16
2-La réception des échantillons	25
3- Matériel biologique	26
3-1-Les échantillons prélevés de sites non stériles	26
3-2-Les échantillons prélevés de sites stériles	26
4-Recherche des BAAR	27
4-1-Préparation des frottis	27
4-2-Coloration de Ziehl-Neelsen à chaud.....	28
4-3-Examen microscopique	30
5-Culture sur milieu solide	31
6-Amplification génique par PCR de tuberculose (Technique GeneXpert).....	32
Partie 3 : Résultats et discussions	33
1-Recueil des prélèvements.....	34
2-Résultats de l'examen microscopique.....	34
2-Résultats de la culture sur milieu löewentein-jensen	35
3- Données épidémiologiques	36
Conclusion.....	39
Liste de références.....	40
Webographie	

Résumé

La tuberculose est une maladie infectieuse classée la neuvième cause principale de la mort dans le monde, causée par une bactérie nommée bacille de koch. Elle se présente sous deux formes : une forme pulmonaire la plus fréquente qui est considérée comme un problème de santé publique, une forme extra-pulmonaire plus rare.

Mon stage a été effectué au sein du service de Bactériologie du laboratoire Filab d'Analyse Médicales à Fès. Mon objectif était de rechercher le bacille de koch dans les échantillons prélevés des patients par l'utilisation des méthodes conventionnelles du diagnostic bactériologique d'une tuberculose, et de réaliser une étude prospective et une autre rétrospective afin d'analyser le profil épidémiologique de la tuberculose sur une période de 01/01/2018 à 01/01/2019, basée sur un total 150 échantillon, dont 11% cas ont présenté une infection tuberculeuse. La tranche d'âge la plus infectée a été les jeunes avec un pourcentage de 50%. Toutefois, cette prédominance est observée chez les hommes (75%) que les femmes (25%).

Nous avons utilisé une méthode de coloration de ZN pour rechercher des BAAR (examen microscopique), et parfois la culture sur Löwenstein-Jensen (examen macroscopique) afin de confirmer les résultats de l'examen microscopique.

Mots clés : Tuberculose, bacille de koch , diagnostic bactériologique.

Introduction

La tuberculose (TB) est une infection contagieuse, la plus meurtrière au même titre que le VIH, qui présente un véritable fléau et un problème de santé partout dans le monde. Elle est responsable à chaque année d'un grand nombre de décès dans le monde, avec une prévalence est d'environ 1.5 millions de décès par an.

Selon l'OMS, un tiers de l'humanité âgé de 15 à 45 ans, est touché par le *M.tuberculosis*.

Au Maroc la TB reste une maladie endémique malgré un programme national de lutte antituberculeuse (PNTB) long et bien administré. Actuellement Notre pays est également classé par l'OMS dans le groupe des pays ayant une prévalence modérée de la tuberculose, avec une incidence annuelle de 87 cas pour 100 000 personnes (le ministre de la santé au 24 Mars 2019 à Rabat).

À la lumière de ces informations, nous avons étudié cette pathologie infectieuse pour voir son profil épidémiologique et son diagnostic microbiologique et aussi son traitement prophylactique et thérapeutique.

Les objectifs de notre travail sont :

En premier lieu,

- ✚ Rechercher le bacille de koch dans les produits pathologiques réceptionnés au niveau du laboratoire de Bactériologie de Filab-Fès, en utilisant des méthodes conventionnelles du diagnostic bactériologique d'une tuberculose maladie.

En second lieu,

- ✚ Réaliser une étude rétrospective durant 01/01/2018 à 01/01/2019 afin d'estimer la prévalence de la maladie sur le total des patients suspectés d'être atteints de la tuberculose.

Partie 1 : Revue bibliographique

1-Définition de la tuberculose

C'est une maladie infectieuse et contagieuse par voie aérienne et peut être mortelle, causée par le bacille de koch nommé le *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) [1], qui a été découvert par Robert Koch en 1882. Cette bactérie touche le plus souvent les poumons. Elle se propage d'une personne à l'autre personne ou de l'animal à l'homme [2].

La tuberculose est connue comme une infection pulmonaire (figure 1), mais elle a aussi une capacité de toucher d'autres tissus dans l'organisme engendrant une tuberculose extrapulmonaire. Ce type de la tuberculose est rare et se manifeste au niveau des ganglions, de la peau, des intestins, des reins, etc. [3].

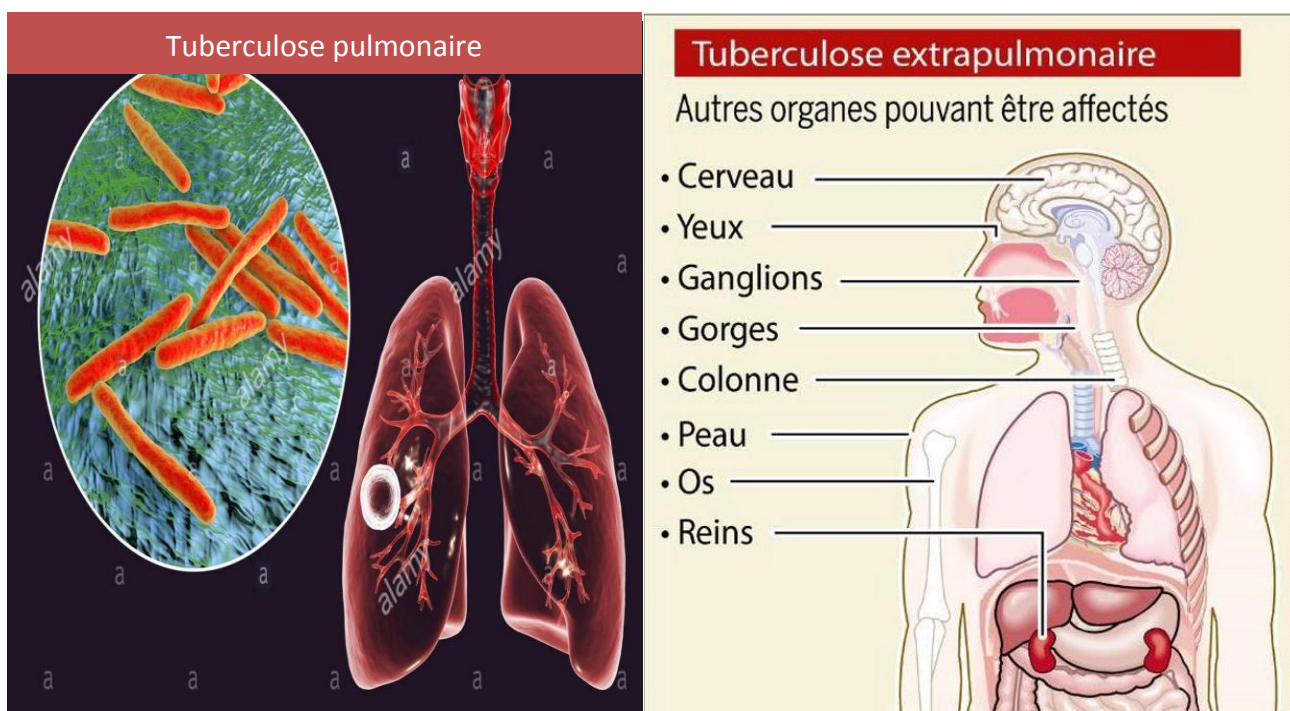


Figure 1 : Les plus fréquentes localisations anatomiques de la tuberculose

2- Epidémiologie de la tuberculose

2-1-Tuberculose dans le monde

La tuberculose représente, jusqu'aujourd'hui un problème mondial de la santé publique dans de nombreux pays, en Afrique, en Asie (figure 2) avec une grande contagiosité et avec une forte résistance aux médicaments [4].

Selon l'OMS a notifié l'apparition environ 10.4 millions de nouvelles infections tuberculeuses en 2016, La tuberculose est responsable de 1.7 million de décès dans le monde dont plus de 95% sont appartenus à des pays faibles et intermédiaires [5].

Le taux de la mortalité qui est causée par la TB a diminué jusqu'à 37% dans le monde depuis l'année 2000, c.-à-d. la situation épidémiologie de cette maladie s'est améliorée depuis la mise en place d'une stratégie de lutte antiburculeuse par l'OMS .Toutefois, la maladie reste considérée comme l'une des 10 premières principales causes de la mortalité dans le monde, selon le dernier rapport mondial de la TB 2017 publié par l'OMS .Notamment à cause de la diffusion de souches multi résistances aux traitements antituberculeux .Ces souches sont prédominante en Asie centrale ,Chine ,Inde et Fédération de Russie.

2-2-Tuberculose au Maroc

La tuberculose est très connue au Maroc .Elle touche plus souvent le sexe masculin que le sexe féminin. En effet, 59% des hommes contre 41% des femmes sont touchés. En 2016, le ministre de la santé a notifié qu'il y avait près 30.000 cas tuberculeux chaque année, ce qui représente pour 100 000 habitats une incidence de 87 cas tuberculeux.

Cette infection est très concentrée au niveau des zones périurbaines de grande agglomération (figure 3). Elle est liée à la malnutrition, à la pauvreté et également à la densité de population. C'est la raison pour laquelle, on trouve une forte présence de cette maladie dans la région Casablanca-Settat, puis la région rabat-Salé-Kenitra qui présente 17%, la région Tanger-Tétouan-Al Hoceima présente 16% et à la suite la région Souss-Massa avec une proportion de 6% [6].

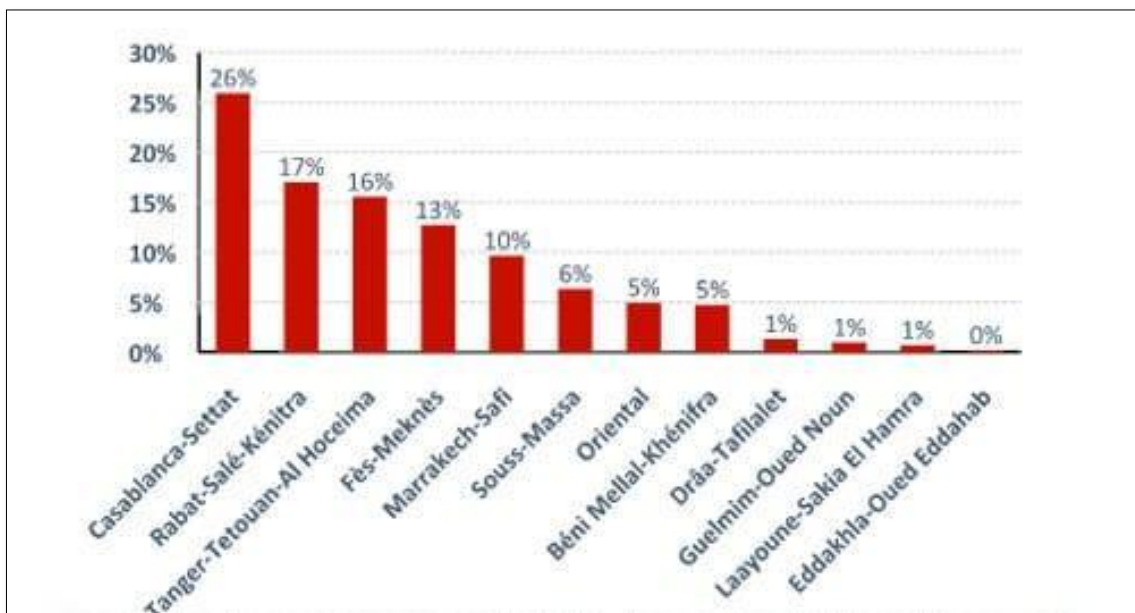


Figure 2 : Répartition proportionnelle des cas de TB rapportés en 2016 par région.

3-Classification de *M .tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis est l'agent étiologique de la TB appartenant au genre *Mycobacterium* (tableau 1).

Tableau 1: Taxonomie du *Mycobactérium tuberculosis* .

Règne	Bacteria
Phylum	Actinobacteria
Classe	Actinobacteria
Ordre	Actinomycetales
Famille	Mycobacteriaceae
Genre	<i>Mycabacterium</i>
Espèce	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>

Le genre de *la Mycobactérium* comprend 150 espèces dont deux sont pathogènes de l’homme nommées *M. tuberculosis*, *M .leprae* [7].

Les agents étiologiques de la TB peuvent être divisés en trois groupes :

- Les mycobactéries tuberculeuses : ce groupe comprend *M. tuberculosis*, *M. africanus*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. caprae* et *pinnipedii*, *M Canetti*. Elles peuvent provoquer la tuberculose (TB) chez l’homme [8].
- Les mycobactéries non tuberculeuses (MNT) : ce sont des mycobactéries atypiques commensales. Ces dernières sont devenues des pathogènes émergents chez les personnes dont le système immunitaire est fragile [9].
- *Mycobactérium leprae* est l'agent responsable de la lèpre.

4-Caractères de *Mycobactérium tuberculosis*

4-1- Structure de l’enveloppe

L’étude de la structure de l’enveloppe (figure 4) du bacille tuberculeux nous permet de comprendre le mécanisme de cet agent responsable de la tuberculose.

Cette enveloppe est formée d’une membrane plasmatique, d’un réseau réticulé composé de peptidoglycanes, Ces derniers sont attachés au complexe de polysaccharides (arabinogalactane) qui est à son tour acylé avec des acides mycoliques formant un complexe entier (mycolyl-arabinogalactane-peptidoglycane). Elle est entourée d’une couche externe ou bien d’une capsule (présente uniquement chez les espèces pathogènes), de nature protéique, polysaccharidique et non lipidique, mais certains lipides sont installés dans des couches plus profondes de la capsule [10].

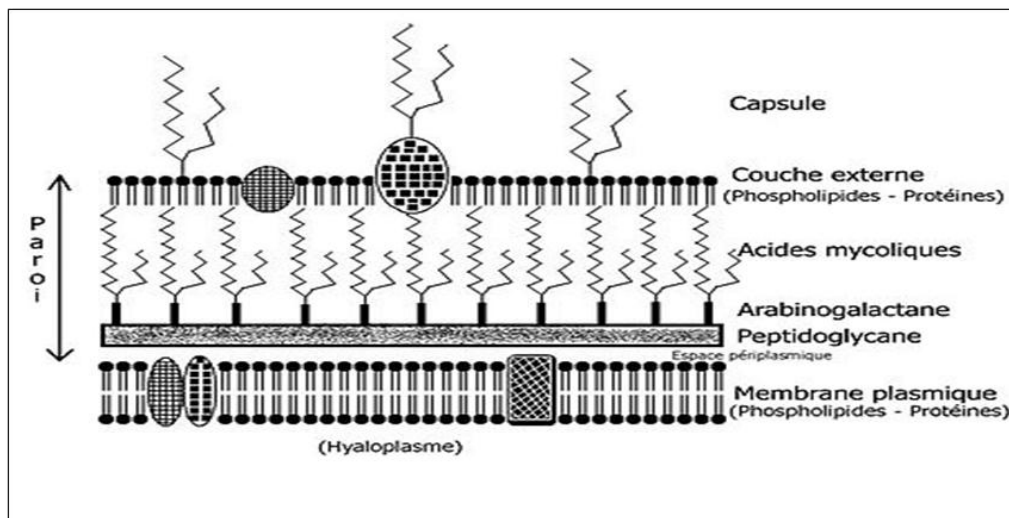


Figure 3: Structure schématique de l'enveloppe de *M.tuberculosis*.

4-2-Caractères morphologiques

M.tuberculosis est un bacille acido-alcool-résistant mesurant entre 0.2 et 0.3 μm de diamètre et 2 à 5 μm de longueur [11], de forme droite incurvée ou spiralée[11]. La structure de la paroi des mycobactéries présente des points communs avec celle des bactéries à gram positif.(il ne se colore pas avec le bleu de méthylène).Il est immobile, asporulé,sa coloration (coloration de ZN) est souvent fragmentaire ou granulaire, uniforme ou irrégulière(figure 5).

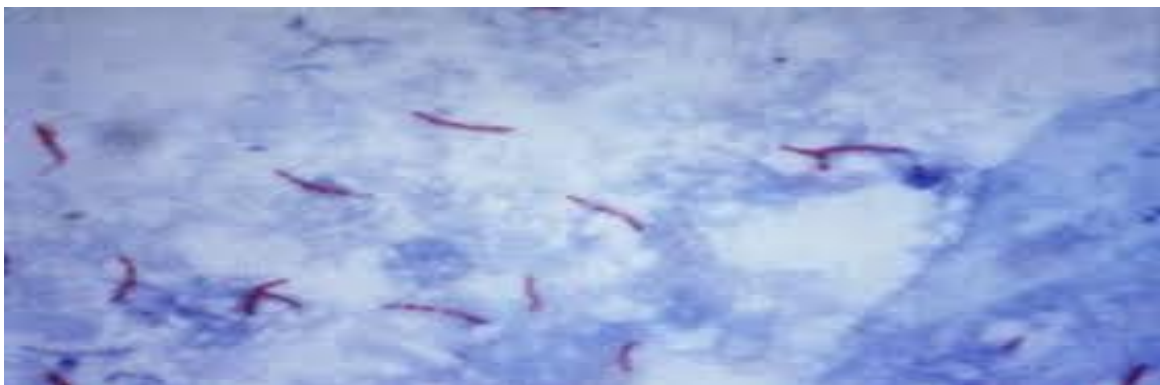


Figure 4: Bacille de koch en microscope optique.

4-3-Caractères génétiques

M.tuberculosis est caractérisé par un génome formé d'un seul chromosome circulaire de 4.4Mb de taille. Ce génome est défini par une teneur élevée en bases guanine-cytosine (G+C :

65%) [14]. Il est également constitué de 3924 gènes codant pour des protéines, alors que 50% gènes codent pour des ARN stables [12].

4-4- Caractères biochimiques

Ces caractères participent à l'identification des espèces des mycobactéries, *M.tuberculosis* est un bacille aérobic strict de nitrate réductase et uréase positive. Il synthétise une catalase thermolabile qui est positive à 25C° mais elle est négative après chauffage à 68C°[11].

Au cours de sa croissance, il synthétise une quantité importante d'acide nicotinique qui est révélé par le niacine test (test konno)

4-5-Caractères cultureux

Sur les milieux solides, les colonies sont épaisses et rugueuses avec une surface ridée et une mince marge irrégulière, en particulier :

- Sur le milieu LOEWENTEIN-JENSEN (le milieu le plus utilisé), les colonies sont rugueuses, et sèches en chou-fleur de teinte crème-beige (figure 6) . La culture est très lente (ces colonies n'apparaissent qu'au bout de 3 à 4 semaines car le temps de division de *M.tuberculosis* est 20h).
- Sur les milieux liquides les souches forment une pellicule qui devient épaisse et ridée avec l'âge.

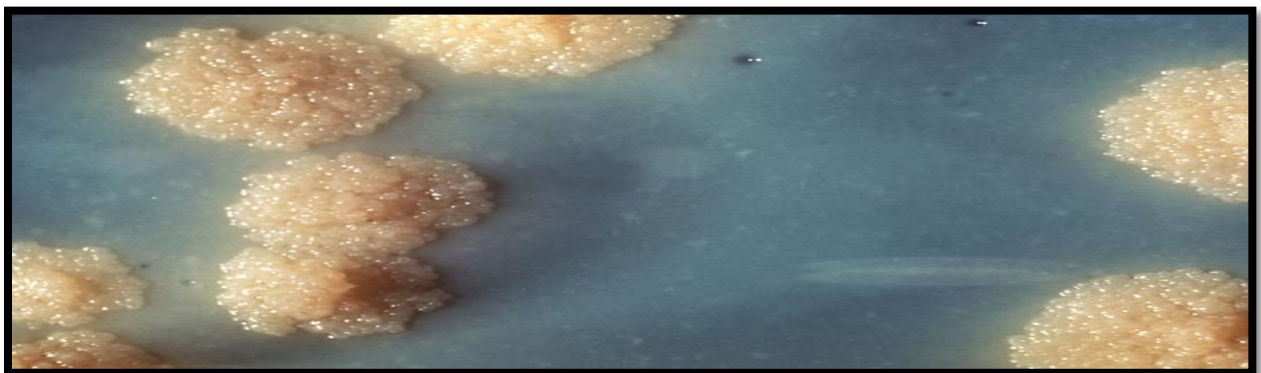


Figure 5 : Colonies de *M .tuberculosis* sur milieu solide (Löwenstein-Jensen).

5-Mode de transmission

La tuberculose due à une infection tuberculeuse (bacille de koch) se transmet d'une personne (ayant la maladie de la tuberculose) à une autre par voie aérienne ou elle peut se propager de l'animal à l'homme par le lait de vache c'est le cas de *M.bovis*.

En effet, la circulation de cette infection à deux voies :

5-1-La voie directe

Les malades atteints de la TB pulmonaire sont le réservoir principal de la maladie.

Au moment où le malade non diagnostiqué et non traité parle, et surtout lorsqu'il tousse ou éternue autour de lui, il émet environ 3500 à un million de gouttelettes de salive (qualifiées de gouttelettes de Flügge) .Or, ces dernières contiennent 1à 5 bacilles tuberculeux.

L'inhalation de ces particules par les personnes en contact avec la source d'infection augmente la fréquence d'avoir la maladie surtout s'il y a une grande charge microbienne (figure 7). Ces dernières ne sont pas éliminées par le tapis muco-ciliaire et traversent l'appareil respiratoire pour s'installer dans les alvéoles pulmonaires où ils seront multipliés en engendrant une autre infection surtout chez les personnes immunodéprimés [2].

L'absence des personnes à proximité ne limite pas l'épidémiologie de la TB car les particules infectantes sont capables de rester en suspension dans l'air pendant plusieurs heures (environ 6h).Elles se dessèchent et deviennent des particules légères, qualifiées des particules infectantes, contenant des bacilles tuberculeux [2].

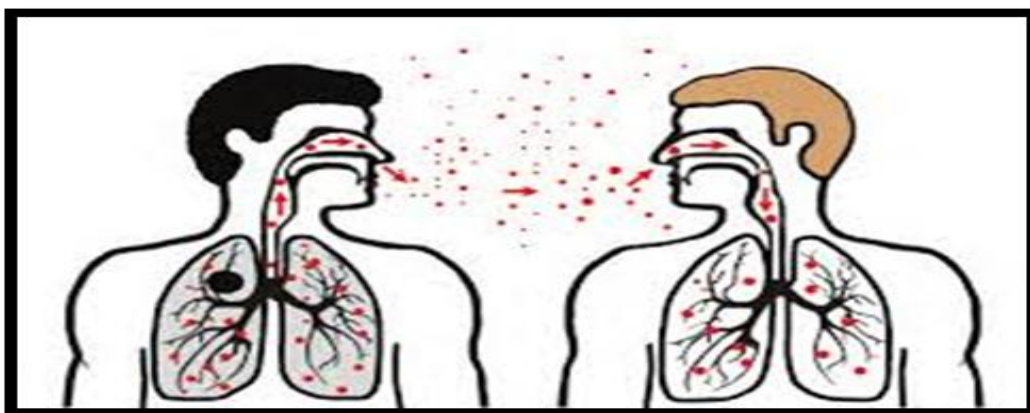


Figure 6:Transmission de la tuberculose par la voie aérienne.

5-2-La voie indirecte

Cette voie dépend des particules infectantes dispersées dans l'environnement. Ces particules se déposent partout autour de l'homme et peuvent être ingérées par l'intermédiaire de l'alimentation (viande ou lait contaminés), les eaux ; les locaux.

6- Physiopathologie de *Mycobacterium tuberculosis*

M.tuberculosis est un agent pathogène présent dans la sécrétion des différentes enzymes de dégradation (toxines). Il a également une capacité à résister au pouvoir bactéricides des macrophages ce qui conduit à l'activation des réactions immunitaires spécifiques.

Au cours de la primo-infection, les bacilles tuberculeux sont inhalés et atteignent les alvéoles pulmonaires où ils seront reconnus grâce à la structure de leur paroi et ils seront phagocytés par les cellules immunitaires telles que les macrophages, entraînant une première réponse immunitaire non spécifique afin de contrôler les germes et d'éviter la maladie. En revanche, cette défense a échoué devant la composition de la paroi de ces bacilles ce qui engendre leur multiplication à l'intérieur des macrophages, en empêchant l'activité lysosomale qui se fait par la production d'une série des enzymes (la catalase, l'uréase, la superoxyde dismutase) cette dernière bloque les réactions de peroxydation, ce qui aboutit à lyse des macrophages infectés pour faciliter leur libération. Ces bacilles seront à leur tour phagocytés par d'autres macrophages en formant un foyer infectieux primaire. Ces caractéristiques ont été démontrés aussi chez la *M.bovis* qui a une capacité d'échapper à phagocytose[13].

Le défaut de la défense innée immunitaire aboutit à l'intervention d'une défense adaptative spécifique ($LTCD_4^+$) par la sécrétion des IFN_γ afin de lyser les macrophages infectés [14].

En général la primo-infection résulte une lésion pulmonaire qui peut devenir une adénopathie satellite (la figure 8) ; L'organisme réagit à cette primo-infection en initiant une formation d'un granulome qui est constitué principalement des macrophages infectés et des cellules T[15], et d'une réaction immunitaire spécifique (adaptative) pendant 4 à 6 jours.



Figure7: Adénopathie cervicale volumineuse.

Chez les sujets immunocompétents l'infection s'arrête à ce stade [16], mais les bacilles restent vivants pendant des années sous forme latente (bacilles dormants).

Dans le cas des sujets immunodéprimés, l'infection se développe de sorte que les macrophages infectés vont circuler dans l'organisme par la circulation lymphatique et sanguine provoquant des lésions secondaires pulmonaires comme (nodules, cavernes) ou extra-pulmonaire (TB ganglionnaires, TB rénales, etc...) [16].

7- Formes de la tuberculose

La tuberculose est une maladie contagieuse se représente sous deux formes :

7-1-Forme pulmonaire

C'est la forme la plus contagieuse, et la plus fréquente de la tuberculose. Elle cible généralement les poumons mais parfois peut même se disséminer en gagnant d'autres organes de l'organisme humain et génère d'autres formes de la tuberculose. [1].

7-2-Forme extra-pulmonaire

La TBEP est une infection non contagieuse et difficile à diagnostiquer. Elle est due à une dissémination hématogène du bacille de koch ou d'un contact direct de ce dernier avec l'organe. Comme son nom l'indique, elle touche généralement tous les organes de

l'organisme sauf les poumons, (la plèvre, les ganglions lymphatiques, la colonne vertébrale, les os et les articulations, les voies génito-urinaire, le système nerveux, l'abdomen [1].

8-Facteurs de risque de la tuberculose

Il y a 2 catégories de risque pour la tuberculose : environnementales et biologiques

- Les facteurs de risque environnementaux concernent l'intensité et la durée de l'exposition d'une personne aux autres sujets ayant la maladie de la tuberculose, en particulier la résidence dans les prisons, dans les hôpitaux où il y a le taux de transmission le plus élevé [17].
- Les facteurs de risque biologiques, ils sont déterminés par des facteurs individuels des personnes. Ces derniers peuvent correspondre à des maladies tels que le diabète sucré, la gastrectomie, ou infectés par le virus de l'immunodéficience humaine(VIH) et aussi l'utilisation des drogues par la voie intraveineuse et le tabagisme qui est considérée comme un facteur majeur de risque biologique de la TB.

Il y a aussi le facteur d'âge où les enfants à compter du jour de leur naissance jusqu'au jour de leur 5ème année sont très sensibles. En effet, Cela s'explique par leur système immunitaire très faible (la TB disséminée et la TB méningite).Ceux qui ont entre 5 ans et le début de la puberté semblent relativement résistants. Les gens qui ont entre 15 et 59 ans sont sensibles. La plupart des pays du monde montre que les hommes sont plus diagnostiqués avec la TB que les femmes mais on sait pas que le sexe influence la susceptibilité à la tuberculose, des facteurs de style de vie comme le tabagisme [17] .

9-Symptômes de la tuberculose

- ✓ Une toux persistante avec des crachats épais contenant parfois quelques filets de sang
- ✓ Fièvre légère accompagnant des sueurs nocturnes.
- ✓ Un amaigrissement avec une perte d'appétit
- ✓ Douleurs aux articulations ou à la colonne vertébrale.

10-Diagnostic de la tuberculose

10-1-Tuberculose active (la TB pulmonaire)

10-1-1-Radiographie pulmonaire

Ce diagnostic consiste à rechercher des anomalies au niveau des poumons tels que les nodules (figure 9), les cavernes (figure 10)...

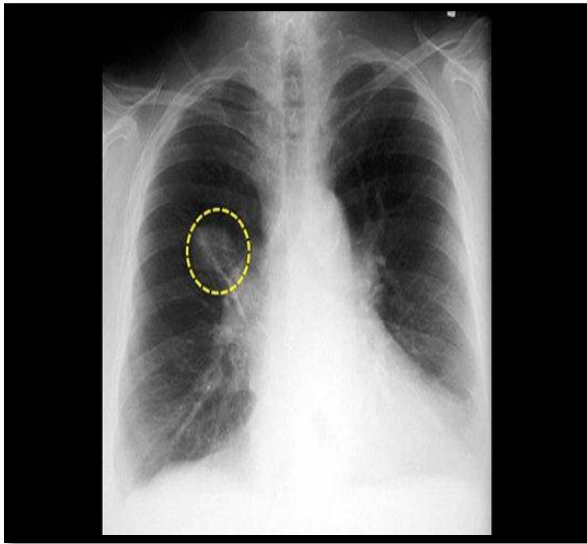


Figure 8: Radiographie montrant un nodule pulmonaire.



Figure 9: Radiographie montrant une caverne pulmonaire.

10-1-2-Technique de coloration

L'examen microscopique le plus utilisé pour diagnostiquer et pour identifier les BAAR. C'est parfois la seule méthode de diagnostic disponible dans les pays en voie de développement[16]. Deux techniques de coloration sont les plus largement utilisées : la coloration de Ziehl-Neelsen (ZN) et la coloration d'auramine-rhodamine(AR) qui sont basées sur la capacité des mycobactéries à retenir le colorant même après le traitement avec une solution décolorante (acide alcool).

Les échantillons traités avec la coloration de ZN sont examinés à l'aide d'un microscope optique afin de mise en évidence de la présence des BAAR [18]. Alors que la méthode auramine-rhodamine nécessite un microscope à fluorescence, où les organismes BAAR présentent une fluorescence jaune rougeâtre.

L'avantage de cette méthode c'est qu'elle est peu coûteuse, facile à réaliser et facilement disponible. Tandis que, son inconvénient c'est que les taches n'identifient pas les espèces de mycobactéries [19].

10-1-3-Culture mycobactérienne

La sensibilité et la spécificité de la culture est d'environ 82% et 98% [20]. Deux méthodes générales peuvent être utilisées afin de cultiver le bacille de Koch :

- Une méthode utilisant un milieu solide à base d'œuf tel que Löwenstein-Jensen. La multiplication des mycobactéries au niveau des milieux solides est très lente durant de 3 à 8 semaines.
- La deuxième méthode concerne un milieu liquide (bouillon), sur lequel la croissance des mycobactéries est plus rapide. Ce milieu a besoin seulement de 1 à 3 semaines d'incubation pour visualiser des mycobactéries BAAR.

10-2-Test de la tuberculine

L'intradermo-réaction à la tuberculine (IDR) permet de mettre en évidence une réaction d'hypersensibilité retardée (24h à 72h) se traduisant au niveau de la peau (figure 11) après une injection intradermique d'antigènes mycobactériens par une accumulation des lymphocytes sensibilisés[21]. Cette réaction témoin de l'acquisition de l'organisme d'une immunité spécifique contre les mycobactéries. Cette technique est réalisée par une seringue type insuline de 1ml, d'une aiguille à IDR et de 0.1ml de la tuberculine.

-Trois situations peuvent se présenter de signification clinique variable :

- Diamètre d'induration < 5 mm : IDR négative
- Diamètre d'induration : 5-15 mm : IDR positive mais zone d'incertitude à interpréter en fonction de la notion de vaccination par le BCG ou la probabilité d'infection récente ou d'immunodépression.
- Diamètre d'induration > 15 mm : IDR positive, infection.



Figure 10: Inoculation de la tuberculine par voie intradermique à la face antérieure de l'avant bras.

11-Traitements

Selon le ministère de la santé, le traitement prend une durée au minimum de six mois et pouvant atteindre jusqu'à 18 mois en cas de formes sévères ou plus toxiques.

11-1-Traitement prophylactique

Il consiste à la vaccination par le BCG (Bacille Calmette et Guérin) afin de protéger les jeunes enfants et les nourrissons de la maladie, en particulier la TB méningite.

11-2-Traitement curatif

Le traitement de l'TBEP est le même que pour la TBP. Mise à part que le temps de traitement est prolongé dans certains sites comme méningite TB (12 mois) et TB osseuse. Ce traitement consiste à tuer des bacilles présentes dans les organes infectés par l'association de plusieurs antibiotiques tuberculeux qui constitue une chimiothérapie d'une période minimale de 6 à 8 mois[22]. Cette dernière consiste à prendre quatre médicaments de première ligne à chaque jour sauf le dimanche : isoniazide(H), rifampicine®, pyrazinamide(Z), éthambutol, pendant une phase initiale intensive d'environ deux mois, suivi d'une phase de continuation de 4 mois avec une administration quotidienne de rifampicine et d'isoniazide [23].

Partie 2 : Matériel et méthodes

1-Lieu et période de l'étude

Il s'agit d'une étude prospective durant une période allant du 01 Avril à 20 Mai 2019 pour analyser des échantillons provenant de patients suspectés d'être atteints de TB. Il s'agit encore une étude rétrospective a porté 150 échantillons sur une durée de 01/01/2018 à 01/01/2019 pour estimer la prévalence de la TB. Ces échantillons sont réceptionnés au niveau de l'unité bactériologique du laboratoire Filab d'Analyses médicales.

Etude prospective

2-Réception des échantillons

Les échantillons sont prélevés par une infirmière au niveau des services du laboratoire. Ils sont généralement recueillis le matin à jeûn dans des récipients plastiques étiquetés transparents et résistants à l'écrasement (figure 12). Chaque récipient doit porter une demande d'examen spécifique de la recherche de BAAR. Il doit obligatoirement porter les mêmes informations sur le patient.

Chaque échantillon doit être enregistré dans le registre du laboratoire, sous un numéro d'ordre, l'âge, le type d'échantillon, la date du jour de la réception et ainsi l'identification de la séquence (c.-à-d. 1 pour le première, 2 pour le deuxième et 3 pour le troisième prélèvement). Les prélèvements qui ne sont pas emmenés directement au laboratoire doivent être conservés au froid (4 C°) dans une boîte d'une durée ne dépasse pas 3 à 4 jours.

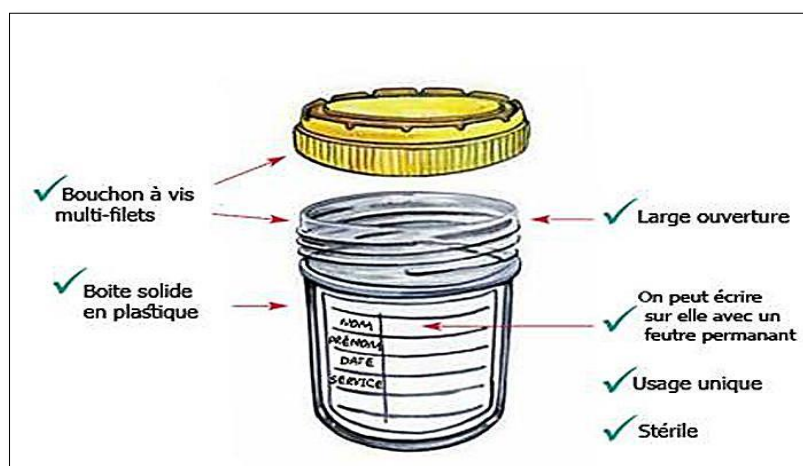


Figure 11 : Schéma représentant le récipient idéal pour recueillir les échantillons

2- Matériel biologique

2-1-Les échantillons prélevés de sites non stériles

- ✚ **Les crachats** : ou les expectorations spontanées sont recueillis le matin au réveil et à jeûn, par la procédure de toux digérée .les crachats bronchiques ,purulents et non salivaires ou sanguins(figure 13) doivent être prélevés dans des crachoirs pendant 3 jours successifs .

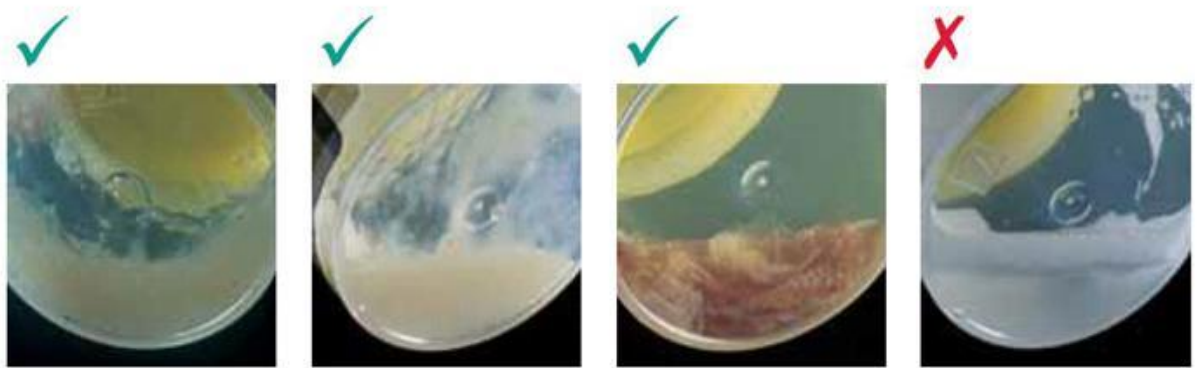


Figure 12: Photographie représente les différents aspects du crachat.

- ✚ **Les tubages gastriques** : Cet examen utilisé lorsque l'examen du crachat est irréalisable (notamment chez les enfants), permet de recueillir les sécrétions bronchiques dégluties pendant le sommeil. Le liquide gastrique est prélevé au réveil et à jeun pendant 3 jours par une infirmière à l'aide d'un tube flexible et d'une seringue introduit doucement par voie nasale jusqu'à ce qu'il atteigne l'estomac. Ce liquide est recueilli et mis dans une boîte stérile qui sera adressée rapidement au laboratoire. Par la suite le liquide sera centrifugé 20 min à 3000 tpm. Le culot de centrifugation sert à faire un étalement qui sera coloré comme les crachats.
- ✚ **Les urines** : Ils sont recueillis stérilement après une toilette soignée avec antiseptique pendant 3 jours..

2-2-Les échantillons prélevés de sites stériles

- ✚ **Prélèvement sous fibroscopie bronchique** : C'est un liquide d'aspiration bronchique (brossage bronchique) prélevé chez les patients hospitalisés. Il est réalisé lorsque les crachats ou le tubage gastrique ne permettent pas le diagnostic.

- ✚ **Liquide d'épanchement:** Comme le liquide céphalo-rachidien, liquide d'ascite, liquide articulaire, liquides pleuraux qui sont collectés par ponction dans un tube stérile afin d'être diagnostiqués.
- ✚ **Le sang :** C'est un prélèvement stérile pour la tuberculose extra-pulmonaire :Il est prélevé à partir d'une ponction et mis dans des tubes stériles avec anticoagulant .Cet échantillon doit obligatoirement être envoyé le même jour de prélèvement.
- ✚ **Biopsie et pièces opératoires** (prélèvement chirurgicaux); ce sont des prélèvements tissulaires (à partir des os, des reins, des ganglions, de foie...).Ce prélèvement est réalisé à l'aide des différentes méthodes tels que le pince,trocart,bistouri .Cet échantillon est prélevé et le collecte par une seringue stérile pour être acheminé directement au laboratoire en immergeant dans un sérum physiologie stérile .

3-Recherche des BAAR

3-1-Préparation des frottis

L'étalement du crachat(figure 14) s'effectue sur les lames de verre neuves , séchées et dégraissées qui sont déjà nommées selon les numéros d'ordre des échantillons par un diamant marqueur pour éviter qu'ils ne soient pas effacés après la décoloration par l'acide lors des colorations.

En travaillant obligatoirement près de bec bunsen (dans rayon 20 cm) pour éviter toute contamination. Avec une anse de platine stérile, on transfère une partie purulente ou hémorragique de crachat, puis on l'étale sur la lame en faisant des mouvements circulaires pour avoir une couche mince sur une surface de 3 cm x 2 cm. Ensuite, les lames sont attentivement séchées à l'air avant d'être chauffées par la flamme (car le chauffage du frottis humide peut entrainer une altération des BAAR). Et l'anse de platine est immédiatement stérilisée.

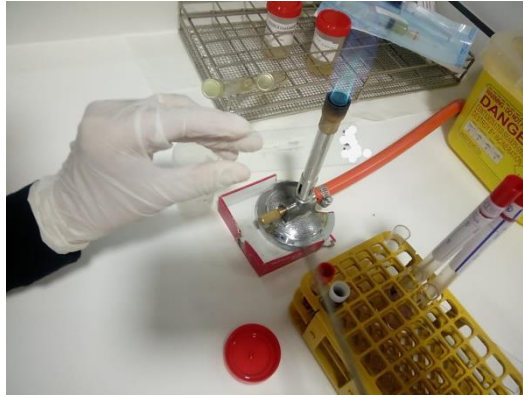


Figure 13: Photographie de l'étalement du crachat prise à l'unité du BK (Filab).

Pour les urines et les liquides de ponctions, seulement le culot est étalé. Alors que le LCR, il est souvent étalé sous forme de gouttes déposées et séchées sur le même endroit.

Une fois les lames sont séchées, elles sont fixées par trois ou quatre passages sur la flamme du bec bunsen.

3-2-Coloration de Ziehl-Neelsen à chaud

Cette coloration est la plus utilisée pour la détection des bacilles tuberculeux parce qu'elle est moins couteuse et plus rapide. Elle comprend trois étapes.

❖ Etape 1 : Coloration à la fuchsine phéniquée Ziehl (figure 15)

- On place les lames numérotées sur une grille au-dessus d'un évier.
- On recouvre la totalité des frottis par la fuchsine phéniquée, puis on chauffe (trois fois) délicatement sous les lames en faisant passer une flamme sous la grille jusqu'à l'émission de vapeurs. Si nécessaire, on rajoute de la fuchsine à la lame pour qu'elles ne soient pas sèches.
- Après 10 minute de coloration, l'excès du colorant est jeté, la lame est immédiatement rincée à l'eau de robinet jusqu'à obtenir un liquide de rinçage incolore.



Figure 14: Photographies des étapes de la coloration à la fuchsine phéniqué, prises au laboratoire Filab.

❖ **Etape 2 : La décoloration par l'acide-alcool (figure 16)**

- On recouvre la lame par l'alcool acide, on le laisse agir pendant 3 minutes.
- On lave la lame à l'eau de robinet.
- On vérifie que la décoloration faite par l'acide-alcool se soit bien réalisée.

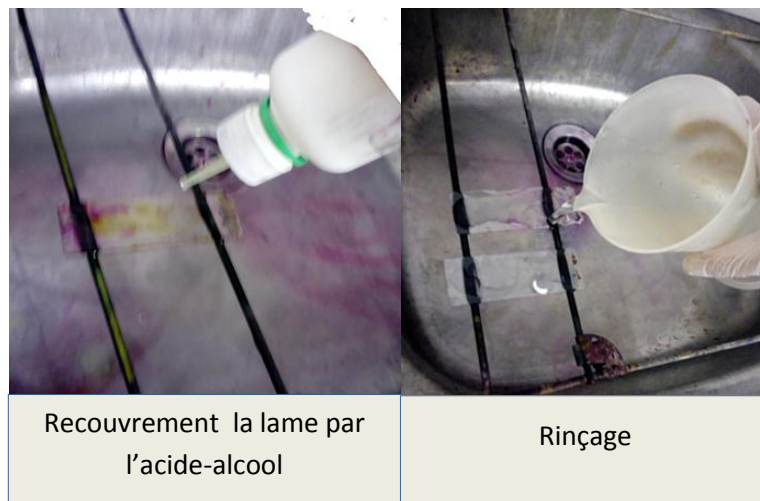


Figure 15: Photographies des étapes de la décoloration par l'acide-alcool, prises au laboratoire Filab.

❖ **Etape 3 :Contre-coloration au bleu de méthylène (figure 17)**

- On recouvre la lame par le bleu de méthylène, on le laisse agir pendant une minute.

- On Lave la lame à l'eau de robinet.
- La lame est laissée à l'air libre pour le séchage.

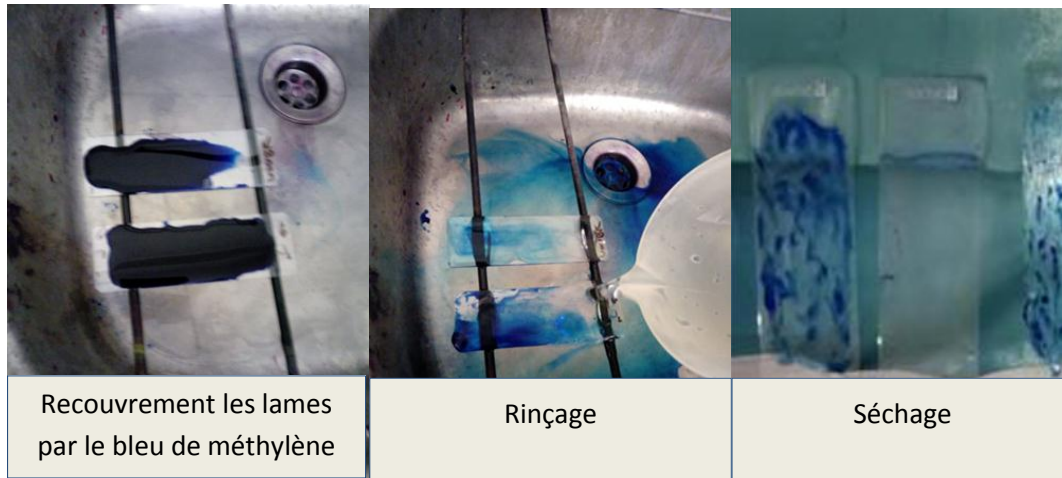


Figure 16: Photographies des étapes de la contre-coloration au bleu de méthylène , prises au laboratoire Filab.

3-3-Examen microscopique

La lecture microscopique se fait à l'immersion au grossissement 10 x100. Une fois que la première longueur du frottis est examinée, on déplace le chariot de sorte que ce déplacement se fait d'un bout de frottis à l'autre ce qui correspond à 100 champs microscopiques pour retrouver une nouvelle longueur .en notant dans chaque champ le nombre des BAAR, ce résultat s'exprime d'une manière quantitative (nombre du BAAR/nombre des champs).

Si le frottis est toujours négatif, on lit une 3^{ème} ligne, pour obtenir à la fin au moins 300 champs.

Le nombre des BAAR présenté chez une malade est en relation directe avec le degré de contagiosité. Le Ministère de la santé a créé un code pour faciliter la lecture des frottis (Tableau 2).

Tableau 2: Le code de lecture des frottis colorés par la technique de Ziehl-Neelsen.

FORME U FROTTIS	NOMBRE DE BACILLES	EXPRESION
Frotti Négatif	0 BAAR/300Champs	Négatif
Frotti Douteux	1-9 BAAR/300Champs	Douteux
Frotti Faiblement Positif	10-99 BAAR/100Champs	+
Frotti Moyennement Positif	1-10 BAAR/Champs	++
Frotti Fortement Positif	>10 BAAR/ Champs	+++

Remarque : les lames à bacilloscopie positive sont conservées tandis que les lames à bacilloscopie négative sont jetées.

4-Culture sur milieu solide

La culture sur milieu Löwenstein-Jensen est la plus employée pour diagnostiquer des BAAR de façon très délicate en raison de la croissance très lente de ce bacille (un temps de génération 18-24). cette méthode se fait en trois étapes : ces milieux sont présentés dans des tubes fermés à vis.

➤ Etape 1 : Décontamination-Fluidification

Cette étape est réalisée dans un tube conique stérile contenant 2 à 3 ml de crachat avec 4 à 6 ml de NaOH.

Ces tubes sont agités vigoureusement et incubés à 37C° durant 20 à 30 min.

➤ Etape 2 : Neutralisation

Après incubation, on ajout l'acide sulfurique à 4% , la neutralisation se traduit par un virage de la couleur en jaune.

➤ Etape 3 : Centrifugation

La solution obtenu après l'incubation sera centrifuger à 3000tpm pendant 15 min ,puis le surnageant sera éliminé et l'eau distillé sera additionnée sur le culot pour être centrifugé la

deuxième fois à 3000tpm pendant 15 min afin d'avoir le culot qui sera à l'ensemencement sur le milieu de Löwenstein-Jensen.

L'ensemencement se fait sur deux tubes, ces dernières sont incubés en position horizontalement à une température 37C° pendant 4 à 6 Semaines en contrôlant au moins 2 fois par semaine.

Expressions des résultats

- L'apparition des colonies à la surface des milieux après 5 jusqu'à 15 jours indiquant la présence des M. atypiques (colonies eugoniques).
- L'apparition des colonies après 28 jours signifiant la présence de M.tuberculosis .Les cultures positives sont reprise de l'étuve pour continuer l'identification et un stockage, alors que les cultures négatives sont remises à l'étuve la deuxième lecture.

5-Amplification génique par PCR de tuberculose (Technique GeneXpert)

Cette méthode assure un diagnostic rapide. C'est une technique sensible et spécifique dans la détection des bacilles de koch dans les expectorations et d'autres fluides .Elle est réalisée par un Appareil s'appelle GeneXpert (figure 18) .Ce dernier est basé sur l'utilisation d'une réaction en chaine de la polymérase afin d'amplifier en temps réel l'ADN de M .tuberculosis et à définir la résistance de ce bacille à la Rifampicine.



Figure 18 :Appareil de GeneXpert.

Partie 3 : Résultats et discussion

1-Recueil des prélèvements

D'après notre étude prospective et rétrospective, on a trouvé 150 échantillons de nature différents (six échantillons différents) dont deux pulmonaire et trois extra-pulmonaire ,avec la prédominance de crachats(127) , suivi des biopsies (3) et en troisième position la ponction ganglionnaire(2).Le tableau (3) suivant montre le type, la nature et le nombre des échantillons.

Tableau 3:Répartition des échantillons selon leur nature.

Type de prélèvements	Nature de prélèvements	Nombre de prélèvements
Prélèvements pulmonaires	Crachats	143
	Aspirations bronchiques	1
Prélèvements extra-pulmonaire	Biopsies	3
	Ponction ganglionnaire	2
	Liquide Céphalo-Rachidien	1
Total		150

⇒ Ces résultats nous apprennent que la TB est une maladie des poumons puisque les échantillons pulmonaires ont été les plus prédominants à une proportion de 96%(144) avec en première position de crachat (95.33%) puisqu'il est plus facile à recueillir ,en retour les échantillons extra-pulmonaires n'ont enregistré que 4 .66%(7).

2-Résultats de l'examen microscopique

Après la coloration des lames par Ziehl-Neelsen (ZN) à chaud, les frottis de BAAR positives sont marqués par un microscope optique sous forme des bâtonnets isolés en petites amas, colorés en rose par la fuchsine phéniqué, droits ou incurvés, plus au moins fragmentés (figure 18 : photographie b).

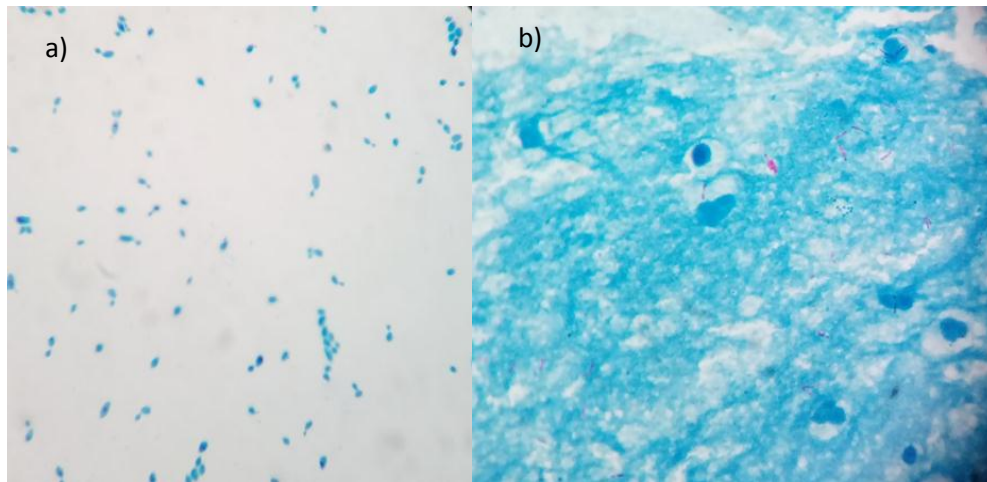


Figure 17: Photographies de l'examen microscopique (grossissement 10x100) de deux lames différentes prise d'un microscope optique au laboratoire Filab : a).Présence de BAARs(ZN positive) :b). absence des BAARs (ZN négative).

2-Résultats de la culture sur milieu löewentein-jensen

Après 45 jours de l'incubation à l'étuve à 37C°. Les bacilles de koch apparaissent sous forme des colonies épaisses, rugueuses, immobiles et isolés en chou- fleur, de la couleur crème-beige (figure 19).

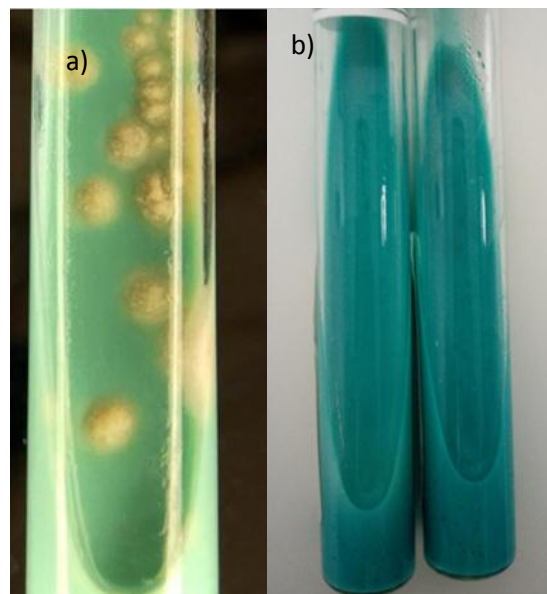


Figure 18: Photographies des résultats de la culture sur milieu LOEWENTEIN-JENSEN : a) culture positive: b) culture négative, prises au laboratoire Filab.

3- Données épidémiologiques

➤ Taux de positivité de la tuberculose dans la population étudiée

Les 150 prélèvements recueillis ont été analysés au niveau du laboratoire Filab d'Analyses médicales, les résultats sont présentés par la figure 20 suivante.

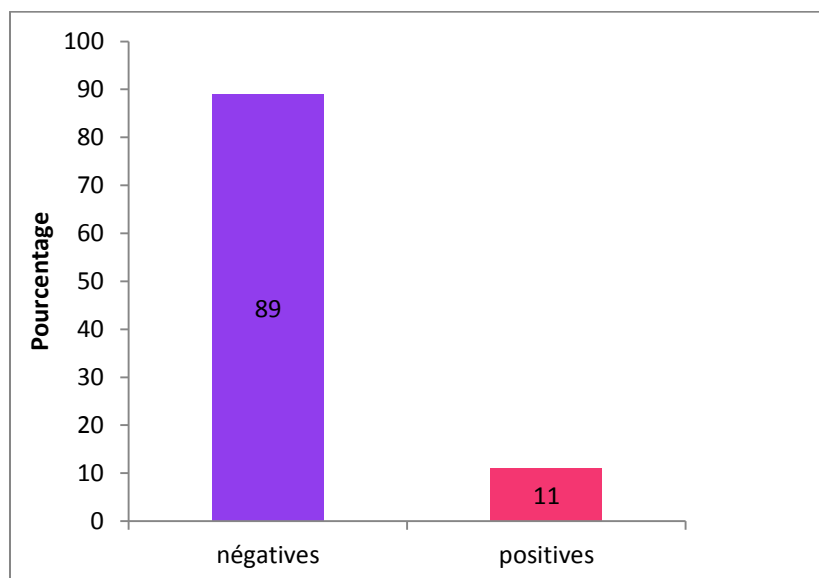


Figure 19: Nombre des cas positifs, négatifs de BK dans les prélèvements en 2018-2019.

➡ Les résultats obtenus révèlent que les personnes atteintes de la tuberculose sont en nombre 16 ce qui représente 11% des prélèvements de type crachats.

➤ Répartition selon l'âge

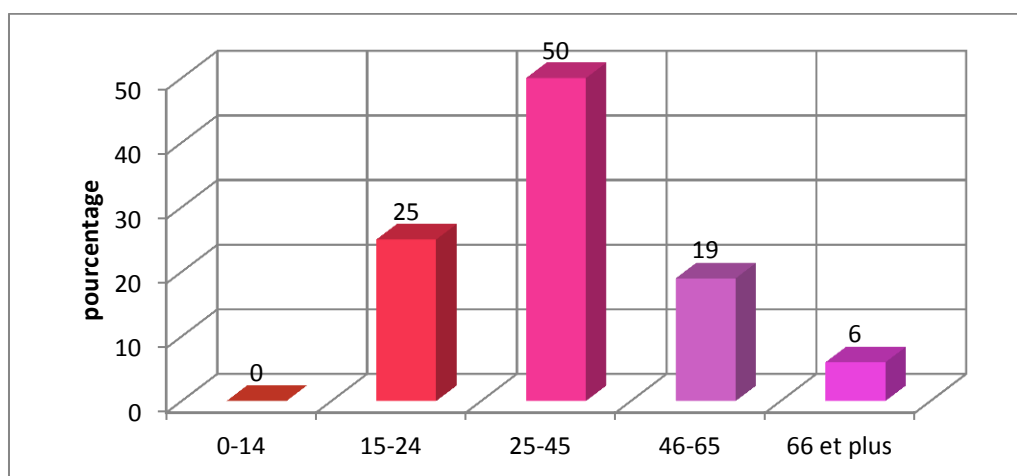


Figure 20: Répartition de TB selon les tranches d'âges.



La figure (21) ci-dessus permet de montrer que la catégorie de la tranche d'âge comprise entre 25 et 45 ans est la plus infectée par cette maladie (50%) avec 8 cas .Cela est suivi de la tranche d'âge entre 15 et 24 ans (25%) avec 4 cas. Alors que les autres catégories (0-14, 46-65, 66 et plus) possèdent des faibles pourcentages qui sont respectivement (0% avec 0 cas ,19% avec 3 cas , 6% avec 1 cas) . Ces résultats nous montrent que la tuberculose touche plus les jeunes et les enfants sont moins touchés par cette bactérie. Des résultats similaires ont été rapportés par Centre biologie Maroc (2016-2017), les pourcentages qui sont trouvés pour chaque tranche d'âge sont les suivants ;0% ayant un âge compris entre la tranche 0 et 4 ans ; 6.12% ayant un âge compris entre la tranche 16 et 20 ans ;69.38% ayant un âge compris entre la tranche 21 et 60 ans ;12.24% ayant un âge plus de 60 ans (Centre biologie Maroc) .Ce résultat nous permet de déduire que la tuberculose infecte plus les jeunes ,ceci peut être éclairé par l'interaction de cette tranche avec le milieu extérieure . Le VIH est un facteur de risque aussi participe à la dispersion de la tuberculose où il y a approximativement de 10 millions de sujets Co-infectés VIH/tuberculose dans le monde.

➤ Répartition selon le sexe

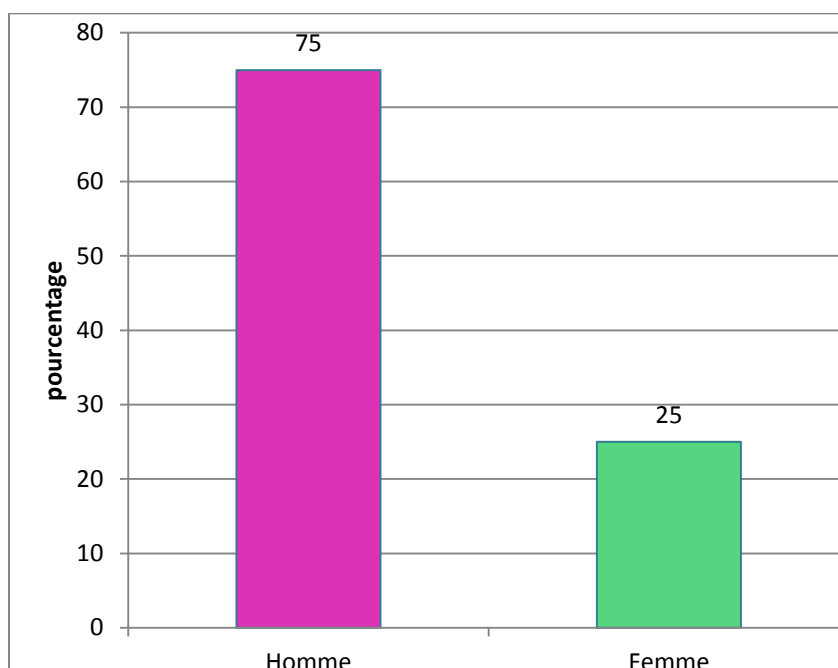


Figure 22: Répartition des cas tuberculeux enregistrés selon le sexe.

⇒ D'après la figure (22), on constate que le sexe masculin est le plus touché de cette maladie avec un pourcentage de 75% (12 cas). Quant aux femmes, elles sont exposées à un pourcentage plus faible qui est 25%.

Des résultats similaires ont été rapportés par le Centre biologie Maroc (2016_2017). Ils ont montrés que le pourcentage de l'infection tuberculeuse est plus élevé pour le sexe masculin que le sexe féminin, les pourcentages trouvés chez les hommes et les femmes sont respectivement 61.22%, 38.77% (Centre biologie Maroc). Cette différence de pourcentage peut être expliqué par un facteur important qui est celui du tabagisme. En effet le tabagisme augmente le risque d'infection par le bacille de koch car il a des effets sur le système immunitaire pulmonaire, il participe à l'inhibition du phénomène de phagocytose en empêchant l'adhésion des bactéries à la surface des macrophages, il intervient également dans l'immunodépression des lymphocytes pulmonaires[24]. Effectivement, il participe dans plus de 20% des cas de la tuberculose au Maroc. Ce facteur est suspecté depuis longtemps d'augmenter le risque de la tuberculose et pour cela l'arrêt de sa consommation permet de bien contrôler l'épidémie tuberculeuse dans les pays émergents.

Conclusion

La tuberculose est une maladie infectieuse causée par *M.tuberculosis*. C'est un majeur principal de la mort à l'échelle mondiale malgré un traitement antibiotique qui est échoué devant les formes résistantes.

Notre étude rétrospective a porté sur 150 échantillons de types différents (pulmonaires et extra-pulmonaires) avec une forte proportion de crachat (95.33%) par rapport aux autres prélèvements, indiquant que la tuberculose pulmonaire est plus fréquente par rapport à la tuberculose extra-pulmonaire.

La tranche d'âge 25-45 est la plus touchée avec un pourcentage 50%, indiquant que cette maladie touche plus les jeunes.

Le sexe masculin est le plus exposé à cette maladie avec un pourcentage (75%). Or, les femmes ne présentent que 25%.

Enfin Le VIH et le tabagisme augmente le risque de la tuberculose.

Les résultats obtenus grâce à notre étude, nous permettent de voir d'autres pistes analytiques.

- ✚ Evaluer le rôle d'autres facteurs jouant un rôle dans l'infection de la tuberculose tels que l'hygiène, l'alimentation ou encore des facteurs extérieurs à l'être humain etc. Cette évaluation pourra de ce fait, jouer un rôle considérable dans la diminution de cette maladie en prenant des mesures préventives, et notamment en prenant des mesures d'hygiène prophylactiques, pour les sujets susceptibles d'être atteints d'une telle maladie.
- ✚ Etendre l'étude réalisée à d'autres villes afin de pouvoir obtenir des données concernant la nation entière.

Listes de références

1: Ait-Khaled, N., E., Alarcôn, E., Armengol, R., Bissell, K., Boillot, F., Caminero, J. A., Chen-Yuan, C., Clevenbergh, P., Dlodlo, R., Enarson, D. A., et al. (2010). Prise en charge de la tuberculose: guide des éléments essentiels pour une bonne pratique. 2^{ème} éd. Paris: Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires.

2 : Ait-Khaled, N. and Enarson, D. A. (1999). Tuberculose : manuel pour les étudiants en médecine. Genève: Organisation mondiale de la Santé.

3 : Mjid, M., Cherif, J., Ben Salah, N., Toujani, S., Ouahchi, Y., Zakhama, H., Louzir, B., Mehiri-Ben Rhouma, N. and Beji, M. (2015). Épidémiologie de la tuberculose. Revue de Pneumologie Clinique 71, 67–72.

4 : Boulahbal, F. and Chaulet, p. (2004). la tuberculose en afrique épidémiologie et mesures de lutte. Médecine Tropical 64, 224– 228.

5 :Gobal tuberculosis report 2017.World Health Organiztion ;2017.

6:le ministre de la santé,2019 ,Aujourd’hui le Maroc.Tuberculose :30.000 cas chaque année. (<http://aujourd'hui.ma/societe/tuberculose-30-000-cas-chaque-annee>).

7: Freidlin, P. J. (2013). A New Paradigm for Genus Mycobacterium Population Structure. J Bacteriol Parasitol 4:p 169 .

8 :Francis Variane et Michael L.Rich (2014) . Guide pratique a l'usage des médecins, Infirmiers, Techniciens de laboratoire et auxiliaire de santé.ISBN .2-906498-95-5.

9 :Andréjak, C., Lescure, F.-X., Schmit, J.-L. and Jounieaux, V. (2011).Diagnostic et traitement des mycobactérioses atypiques d’expression respiratoire. Revue des Maladies Respiratoires 28, 1293–1309.

10 :Hoffmann C, Leis A, Niederweis M, Plitzko JM, Engelhardt H, Disclosure of the mycobacterial outer membrane: Cryo-electron tomography and vitreous sections reveal the lipid bilayer structure [archive], PNAS, 2008;105:3963-3967

11 : Le minor l. et veron m. (1989) Bactériologie médicale. 2^{ème} Ed. Flammarion .paris. p 965- 982.

12 : Cole, S. T., Brosch, R., Parkhill, J., Garnier, T., Churcher, C., Harris, D., Gordon, S. V., Eiglmeier, K., Gas, S., Barry, C. E., et al. (1998). Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 393, 537–544.

13 : Berche P. ; Gaillard J.L. et Simonet M. (1988) Chapitre : Les mycobactéries de la tuberculose dans *Bactériologie*. Edition : Flammarion Médecine-Sciences. p : 407-429.

14 :Slight SR, Khader SA. Chemokines shape the immune responses to tuberculosis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013;24:105–113.

15: Harari A, Rozot V, Bellutti Enders F, Perreau M, Stalder JM, Nicod LP, Cavassini M, Calandra T, Blanchet CL, Jatton K, Faouzi M, Day CL, Hanekom WA, Bart PA, Pantaleo G. Dominant TNF- α + *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD4+ T cell responses discriminate between latent infection and active disease. *Nat Med.* 2011;17:372–376.

16 : Denis F. Martin C. dans Denis F. ; Ploy M.C.; Martin C.; Bingen E. et Quentin R. (2011) Chapitre :Mycobactéries dans *Bactériologie médicale*. Edition : Elsevier Masson. p : 507-535.

17 :Farrar, J., Junghanss, T., Lalloo, D., Hotez, P. J., Kang, G. and White, N. J. (2014). Tuberculosis. In *Manson’s Tropical Diseases*, pp. 468-505.e3 .

18 : Laszlo, A. 2000. Sputum examination for tuberculosis by direct microscopy in low income countries.IUATLD Technical Guide. International Union against Tuberculosis and Lung Disease, Paris, France.

19 : Lettow, M. van and Whalen, C. (2008). Tuberculosis. In *Nutrition and Health in Developing Countries*, pp. 275–306.

20: Levy, H., Feldman, C., Sacho, H., van der Meulen, H., Kallenbach, J. and Koornhof, H. (1989). A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest* 95, 1193–1197.

21 :Meyssonier v. (2012) *Epidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux ; santé publique et épidémiologique*. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie. paris .161p .

22: Boucherit h. (2012) Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine amino- peptidase de Mycobacterium Tuberculosis par diverses molécules. Magister en biochimie. Université des Frères Mentouri Constantine, 110 p.

23:Peirse, M. and Houston, A. (2017). Extrapulmonary tuberculosis. Medicine 45, 747–752.

24 :Underner, M., & Perriot, J. (2012). Tabac et tuberculose. La Presse Médicale, 41(12), 1171–1180.

Webographie

Figure 3 :(<https://www.medias24.com/MAROC/SOCIETE/172041-Plus-de-30.000-cas-de-tuberculose-au-Maroc-en-2016.html>).

