



**UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU**

Unité de **F**ormation et de **R**echerche  
Sciences de la **V**ie et de la **T**erre  
(UFR-SVT)



Centre de **R**echerche en **S**ciences **B**iologiques  
**A**limentaires **N**utritionnelles (**CRSBAN**)  
**P**ôle **R**égional d'**E**xcellence en **B**iotecnologies  
de **O**uagadougou (**PREBO**)

## **THESE UNIQUE**

Présentée  
A L'UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU  
*UFR/SVT*

Pour l'obtention  
DU GRADE DE DOCTEUR

SPECIALITE  
BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE

Par  
Souba DIANDE

### **EVALUATION DE LA RESISTANCE DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* AUX ANTIBIOTIQUES ET EXPLORATION DES FACTEURS DE RISQUE ASSOCIES A LA MULTIRESISTANCE AU BURKINA FASO**

Soutenu publiquement le ...9/02/2010

Devant le Jury :

**Président** : Pr. Alfred S. TRAOTRE, Professeur titulaire, UFR/SVT, Université Ouagadougou

**Membres** : Pr. Flabou BOUGODOGO, Professeur Agrégé, FAC Médecine, Université Bamako

Pr. Yves TRAORE, Maître de Conférence, UFR/SVT, Université Ouagadougou

Pr. Lassana SANGARE, Professeur Agrégé, CHU-YO, UFR/SDS, Université

Ouagadougou, Directeur de Thèse

## **Préface du Président du RA-BIOTECH**

L'école Doctorale régionale de Ouagadougou offre une formation doctorale de biotechnologie dans ses options : Biotechnologie microbienne et cellulaire, Biotechnologie Animale et Biotechnologie végétale.

Elle regroupe la plus part des Universités de l'Afrique francophone sub-saharienne en un réseau : le Réseau Ouest Africain de Biotechnologie (RA-BIOTECH) fruit de la coopération inter-universitaire et dont le siège est au CRSBAN, à l'Université de Ouagadougou.

Les Universités et structures de formation des pays ci-dessous constituent les membre fondateurs de ce réseau : Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Guinée Conakry, Mali, Niger, Togo et d'autres partenaires comme le Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en zone Sub-humide (CIRDES)-Bobo Dioulasso ; Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV)-Sénégal.

Ce réseau sous régional bénéficie de l'appui de plusieurs partenaires de l'enseignement supérieur (Association des Universités Africaines -AUA, United Nations Educational Scientific Cultural Organization (UNESCO), Banque Mondiale, Conseil Africain et Malgache de l'Enseignement Supérieur (CAMES), Agence Universitaire de la Francophonie -AUF, Agence Africaine de Biotechnologie -AAB, etc.

*L'école Doctorale que le réseau anime assure une formation de haut niveau à travers une recherche utilitaire sur plusieurs thématiques touchant la vie quotidienne des populations africaines. Cette école a permis au CRSBAN d'être érigé en pôle régional d'excellence en Biotechnologie d'une part par l'AUA et d'autre part par l'AUF. Elle accueille des étudiants de plus de 14 pays d'Afrique centrale de l'Ouest.*

*Le réseau bénéficie aussi du soutien de certains spécialistes des biotechnologies des universités du Nord : Université de la méditerranée (France), Université Louis Pasteur de Strasbourg (France), Centre de Génétique Moléculaire de Gif-sur-Yvette-CNRS (Paris France), Université de liège (Belgique) ; Faculté Universitaire de Gembloux (Belgique), Université de Rome, Université Agronomique de Wageningen .*

L'importance des biotechnologies dans la résolution des problèmes de développement socioéconomiques des pays de l'Afrique sub-saharienne (Alimentation, Santé, Environnement, etc.) Justifie amplement la mise en place de cette formation. Elle est cogérée par un comité pédagogique international africain, constitué par des enseignants, des chercheurs, tous spécialistes dans les divers domaines des biotechnologies.

*La mutualisation des expériences par toutes ces compétences est un atout majeur pour la formation des ressources humaines de qualité au profit du continent africain et de l'humanité.*

**Pr. Alfred S TRAORE**

**Professeur titulaire de Biochimie Microbiologie  
CRSBAN/UFR-SVT/Université de Ouagadougou**

## **REMERCIEMENTS**

*Ce travail a été réalisé au **Burkina Faso** au laboratoire des mycobactéries du Centre National de Lutte Antituberculeuse (CNLAT) de Ouagadougou. Son financement a été apporté par “Secure The Future/Bristol Myers and Squibb Foundation (SFT-BMS)” et le **Ministère de la Santé**.*

*Ce travail a été réalisé grâce à un effort conjoint de certaines personnes auxquelles je tiens à exprimer toute ma gratitude :*

***A Monsieur le Professeur Alfred S. TRAORE, Professeur titulaire, UFR/SVT, Directeur du CRSBAN, Université Ouagadougou** qui est président du jury malgré ses multiples occupations. Je tiens à vous exprimer très sincèrement ma profonde gratitude pour avoir accepté mon inscription au troisième cycle et la compréhension dont vous avez fait preuve à mon égard pendant les moments difficiles. Je vous exprime toute ma gratitude pour l’enseignement reçu. Votre expérience, votre rigueur scientifique, votre dévouement pour la promotion des étudiants, et pour les travailleurs de la Santé en particulier, vos qualités exceptionnelles de formateur, l’étendue de votre savoir font de vous un Professeur accompli, admirable et respecté.*

***A Monsieur le Professeur Agrégé Lassana SANGARE, Directeur de cette thèse** à qui je tiens à mentionner la précieuse assistance : le soutien dont vous m’avez comblé me fait un devoir de vous assurer de toute ma gratitude. Vos qualités humaines et intellectuelles, votre compétence, votre disponibilité et votre simplicité font de vous un encadreur exemplaire et admiré de tous.*

*Je vous prie de recevoir l’assurance de ma satisfaction.*

***A l’intention des autres membres du jury :***

*- **A Monsieur le Professeur Agrégé Flabou BOUGOUDOGO, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d’Odonto-Stomatologie, Université du Mali, Rapporteur de cette Thèse et membre du jury** : trouvez ici la marque de toute ma considération.*

*- **A Monsieur le Professeur Yves TRAORE, UFR/SVT, Université de Ouagadougou, Rapporteur de cette Thèse et membre du jury** : je vous témoigne toute ma reconnaissance et trouvez ici la marque de toute ma considération.*

***Mes remerciements vont également :***

*- **A Monsieur le Professeur Francis FUMOUX, Université Aix Marseille 2 et au Dr Gisèle BADOUM, pneumologue au CHU-YO et enseignante à l’UFR/SDS** pour avoir été rapporteurs de cette thèse.*

*Qu’ils trouvent ici la marque de toute ma considération.*

*- **A Monsieur le Pr. Nicolas BARRO** dont la courtoisie et la bonté naturelles, les qualités humaines et intellectuelles forcent l’admiration. Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour avoir accepté corriger et instruire ce document malgré ses multiples occupations.*

*- **A Monsieur le Pr. Aboubacar S. OUATTARA et au Dr Cheick A.T. OUATTARA** pour avoir facilité mon inscription au 3<sup>ème</sup> cycle et pour les enseignements reçus. Je leur exprime toute ma reconnaissance.*

*- **A Monsieur le Pr. Hamadou H. DICKO** pour ses conseils pratiques.*

- *Au Dr Somda Antoine du CMLS, pour ses conseils et suggestions dans la rédaction des différents articles.*

- *Aux Dr Souleymane Sanou, Dr Henry N.I. BASSOLE et Dr Aly SAWADOGO pour leurs conseils.*

- *Aux camarades promotionnaires du troisième cycle, Dr Damintoti KAROU, Prosper SAWADOGO et autres.*

*Je tiens à remercier très vivement tous les membres du CNLAT et en particulier Dr B. Issa DINGTOUMDA, Dr Adama ZIGANI, Léon T. SAWADOGO, Abdoulaye GUEYE, Adama MOURFOU, Issaka SAWADOGO, Francis OUEDRAOGO, Nébié BAYEMA et Madame Denise OUEDRAOGO, sans qui rien n'aurait pu se faire dans la salle de culture, et Mlle Sitta NIAMBA. C'est grâce à eux tous que ce travail a été non seulement une véritable expérience professionnelle mais aussi une merveilleuse expérience humaine.*

*Enfin, je tiens à remercier tout le personnel du PNT et en particulier Dr Adjouma COMBARY, Dr Victor BOUNKOUNGOU et Tandaogo SAWADOGO.*

*Nous tenons à remercier les structures suivantes qui ont contribué à la réalisation de ce travail :*

- *Le contrôle de qualité et l'identification plus poussée de certaines de nos souches ont été réalisés au laboratoire du Centre National de Référence des Mycobactéries de Borstel en Allemagne (National Reference Center for Mycobacteria, Parkallee Borstel in Germany).*

- *Les milieux d'isolement et d'antibiogrammes ont été préparés au laboratoire de mycobactéries du Centre Muraz de Bobo-Dioulasso et au laboratoire de référence régionale de Cotonou*

- *Les laboratoires du Centre Régional de Lutte Antituberculeuse (CRLAT) de Bobo-Dioulasso, du Centre Hospitalier Régional (CHR) de Dori et du Centre Médical avec Antenne chirurgicale (CMA) de Gorom-Gorom ont participé au diagnostic bacilloscopique de la tuberculose, à la collecte des échantillons (sérums et crachats) et à l'enrôlement des patients.*

- *A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué de quelque manière que ce soit à l'élaboration de cette œuvre soyez en remerciés.*

# TABLE DE MATIERES

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	
<b>CHAPITRE 1: REVUES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	
<b>1. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES DES MYCOBACTERIES.....</b>	
<b>1.1. Classification.....</b>	
<i>1.1.1. Taxonomie des mycobactéries.....</i>	
<i>1.1.2. Classification selon le pouvoir pathogène.....</i>	
<i>1.1.3. Classification selon l'importance clinique.....</i>	
<i>1.1.4. Classification selon la vitesse de croissance.....</i>	
<b>1.2. Morphologie et structure.....</b>	
<b>1.3. Caractère physico-chimique.....</b>	
<b>1.4. Caractères cultureux.....</b>	
<i>1.4.1. M. tuberculosis.....</i>	
<i>1.4.2. M. bovis.....</i>	
<i>1.4.3. M. africanum.....</i>	
<i>1.4.4. M. canettii.....</i>	
<b>1.5. Caractères biochimiques.....</b>	
<b>1.6. Propriétés antigéniques.....</b>	
<b>2. EPIDEMIOLOGIE.....</b>	
<b>2.1. Habitat.....</b>	
<b>2.2. Répartition géographique des mycobactéries.....</b>	
<i>2.2.1. Dans le monde (particularité de certaines espèces).....</i>	
<i>2.2.2. En Afrique.....</i>	
<i>2.3.3. Au Burkina Faso.....</i>	
<b>2.3. Transmission.....</b>	
<b>3. PHYSIOPATHOLOGIE.....</b>	
<b>4. POUVOIR PATHOGENE.....</b>	
<b>4.1. Pouvoir pathogène naturel : la tuberculose.....</b>	
<b>4.2. Populations de bacilles de Koch.....</b>	
<b>4.3. Pouvoir pathogène expérimental.....</b>	

<b>5. DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE DE LA TUBERCULOSE.....</b>	
<b>5.1. Diagnostic direct : méthodes classiques.....</b>	
5.1.1. <i>Prélèvements.....</i>	
5.1.2. <i>Examen microscopique.....</i>	
5.1.3. <i>Isolement.....</i>	
5.1.4. <i>Identification.....</i>	
5.1.5. <i>Etude de la sensibilité aux antituberculeux.....</i>	
5.1.6. <i>Autres techniques d'isolement et d'identification.....</i>	
<b>5.2. Diagnostic indirect.....</b>	
5.2.1. <i>Tests Immuno-Chromatographiques (ICT).....</i>	
5.2.2. <i>Méthodes immunologiques.....</i>	
<b>6. TRAITEMENT DE LA TUBERCULOSE.....</b>	
<b>6.1. Les médicaments antituberculeux.....</b>	
<b>6.2. Traitements standardisés.....</b>	
6.2.1. <i>Traitement curatif.....</i>	
6.2.2. <i>Traitement préventif.....</i>	
<b>6.3. Monitoring du patient au laboratoire.....</b>	
<b>6.4. Résultats du traitement.....</b>	
<b>7. TUBERCULOSE RESISTANTE.....</b>	
7.1. <i>Tuberculose résistante et multirésistante.....</i>	
7.2. <i>Tuberculose ultra résistante.....</i>	
<b>8. TUBERCULOSE ET VIH.....</b>	
<b>9. TUBERCULOSE AU BURKINA FASO.....</b>	
<b>CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES.....</b>	
<b>1. PÉRIODE ET CADRE DE L'ÉTUDE.....</b>	
<b>2. POPULATION DE L'ÉTUDE.....</b>	
2.1. <i>Critères d'inclusion.....</i>	
2.2. <i>Critères de non exclusion.....</i>	
<b>3. SUPPORT D'ENREGISTREMENT ET VARIABLES MESUREES.....</b>	
<b>4. CONSIDERATION ETHIQUE.....</b>	

<b>5. ETUDE BACTERIOLOGIQUE.....</b>	
<b>5.1. Bacilloscopie.....</b>	
<b>5.2. Culture des échantillons.....</b>	
<i>5.2.1. Décontamination à la soude : méthode de Petroff avec centrifugation.....</i>	
<i>5.2.2. Ensemencement et suivi des pousses bactériennes.....</i>	
<i>5.2.3. Identification des mycobactéries.....</i>	
<i>5.2.4. Etude de la sensibilité aux antituberculeux.....</i>	
<b>6. SEROLOGIE VIH.....</b>	
<b>7. EVALUATION DE L'ÉTAT NUTRITIONNEL.....</b>	
<b>8. ANALYSES STATISTIQUES ET EXPLORATION DES FACTEURS DE RISQUE POUR UNE TB-MR.....</b>	
<b>CHAPITRE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION.....</b>	
<b>1. Article n°1 : Fréquence des mycobactéries non tuberculeuses et du complexe tuberculeux dans les infections pulmonaires au Burkina faso.....</b>	
<b>2. Article n°2: Manuscript No: WAJM /08 /128 _REVISED.....</b>	
<b>3. Article n°3: Mycobacterium tuberculosis drug-resistance in patients previously treated in Ouagadougou, Burkina Faso.....</b>	
<b>4. Article n°4: Risk Factors for Multidrug-resistant Tuberculosis (MDR-TB) in Four Centers in Burkina Faso, West Africa.....</b>	
<b>5. Article n°5.....</b>	
<b>6. Article n°6 : Évaluation de la densité bacillaire avant et après traitement des expectorations par l'hypochlorite de sodium dans le diagnostic de la tuberculose.....</b>	
<b>7. Article n°7.....</b>	
<b>8. DISCUSSION GÉNÉRALE.....</b>	
<b>9. LIMITES DE L'ETUDE.....</b>	
<b>CONCLUSION, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS.....</b>	
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	
<b>ANNEXE 1 : FICHE DE RENSEIGNEMENTS.....</b>	



## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>BCG :</b>	Bacille Calmette et Guérin
<b>BK :</b>	Bacille de Koch
<b>CDC :</b>	Center for Disease Control
<b>CHR :</b>	Centre Hospitalier Régional
<b>CMA :</b>	Centre Médical avec Antenne chirurgicale
<b>CNLAT :</b>	Centre National de Lutte Antituberculeuse de Ouagadougou
<b>CRLAT :</b>	Centre Régional de Lutte Antituberculeuse de Bobo–Dioulasso
<b>[E] :</b>	Ethambutol
<b>[H] :</b>	Isoniazide
<b>MR :</b>	Multirésistance
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PAS :</b>	Acide Para-amino-salicylique
<b>PNT :</b>	Programme National Tuberculose
<b>[R] :</b>	Rifampicine
<b>[S] :</b>	Streptomycine
<b>TB:</b>	Tuberculose
<b>TB-MR:</b>	Tuberculose Multirésistante
<b>TB-UR:</b>	Tuberculose Ultra-Résistante
<b>TCH :</b>	Acide Thiophène-2-Carboxylique
<b>TPM+ :</b>	Tuberculose Pulmonaire à Microscopie Positive
<b>UICTMR :</b>	Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires
<b>VIH/SIDA</b>	Virus de l'Immunodéficience Humaine/Syndrome de l'Immunodéficience
<b>:</b>	
<b>WHO :</b>	World Health Organization
<b>[Z] :</b>	Pyrazinamide
<b>DOTS:</b>	Short directly observed therapy

## RESUME

**Introduction:** au Burkina Faso, l'état des résistances de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) aux antibiotiques n'est pas documenté. On note une persistance des échecs thérapeutiques *in vivo* qui pourraient être associés à la tuberculose multirésistante (TB-MR). **Objectif:** ce travail avait pour objectif d'évaluer l'état des résistances de MTB aux antibiotiques chez les cas de tuberculose pulmonaire nouveaux ou traités antérieurement et d'explorer les facteurs de risque associés à la TB-MR. **Méthodes :** des échantillons d'expectoration des malades positifs pour les bacilles acido-alcool résistants ont été mis en culture sur milieux de Löwenstein-Jensen, au laboratoire du

Centre National de Lutte Antituberculeuse de Ouagadougou. Les isolats ont été identifiés selon leurs caractères morphologiques, culturels et biochimiques. La résistance des souches du complexe *tuberculosis* à l'isoniazide (H, 2µg/L), à l'éthambutol (E, 2µg/L), à la streptomycine (S, 4µg/L) et à la rifampicine (R, 40µg/L) a été déterminée par la méthode des proportions. Le test de dépistage de l'infection à VIH a été proposé aux malades. Les patients TB-MR ont été comparés aux témoins (patients à bacilles sensibles) par ajustement aux variables : sexe, âge, contagion, consommation régulière d'alcool, traitement traditionnel, long séjour à l'étranger (Côte d'Ivoire), traitement antérieur anti-TB, nationalité, profession, statut VIH, centre de diagnostic et état nutritionnel. **Résultats:** parmi 532 souches, 28 (5,3%) étaient des mycobactéries non tuberculeuses *versus* 416 (94,7%) du complexe *tuberculosis* composé de 314 MTB, 8 *M. africanum* et 1 *M. bovis* chez 323 nouveaux cas et de 89 MTB et 4 *M. africanum* parmi 93 cas traités antérieurement. Parmi les 314 isolats de MTB chez les nouveaux patients, 12,4% étaient résistants à tout antibiotique, 7,3% à 1 seul, 2,9% à 2, 0,3% à 3 et 1,9% à 4 ; 3,2% étaient MR. La résistance à H seul a été la plus fréquemment observée (3,8%), suivie de S (3,2%) et de E (0,3%). Parmi les 89 souches de MTB chez les antécédents de traitement, 67,4% étaient résistantes à n'importe quel antibiotique et 51,6% MR. Les taux de résistances étaient respectivement 67,4%, 51,6%, 44,9%, 50,6% à H, R, S et E. Trois des 12 souches de *M. africanum* étaient MR ; la seule souche de *M. bovis* testée était sensible à tous les antibiotiques. La sérologie VIH était positive à 28,7% (n = 316). L'exploration des facteurs de risque a inclus 56 TB-MR et 304 témoins. Les variables "un long séjour hors du Burkina Faso (Côte d'Ivoire notamment), le contagion et un traitement antérieur anti-TB" se sont avérées être des facteurs de risque pour une TB-MR, avec respectivement  $P= 0,015$  ;  $0,007$  et  $0,0001$ . **Conclusion :** au vue de la résistance très élevée chez les cas traités antérieurement, l'optimisation de la surveillance et la détection précoce des cas contagieux, suivies de leur traitement adéquat, pourraient constituer quelques approches actuelles de la lutte contre la TB au Burkina Faso.

**Mots clés :** Tuberculose, Résistance, *Mycobacterium tuberculosis*, Antibiotiques, Burkina Faso

## INTRODUCTION GENERALE

Le genre *Mycobacterium* se compose de bactéries qui, colorées en rouge par la fuchsine, ne sont pas décolorées par l'acide-alcool, d'où leur caractère d'acido-alcool résistance. Elles ont une paroi riche en lipides et un acide désoxyribonucléique (ADN) contenant 61 à 71% de Guanine-Cytosine. La synthèse d'acides mycoliques de 60 à 90 atomes de carbone (C) libre des esters de pyrolyse de 22 à 26 C. Le genre *Mycobacterium* comprend près de 138 espèces dont *M. tuberculosis* qui est la souche majoritaire, et certaines espèces plus rares comme *M. bovis* et *M. africanum*, agents de la tuberculose appartenant au groupe du "complexe *tuberculosis*".

La TB est une pathologie infectieuse très ancienne endémo-épidémique dont l'unité nosologique et la cause effective n'ont été connues qu'à partir du XIX<sup>e</sup> siècle. Outre la TB pulmonaire qui représente 90% des infections dues aux mycobactéries du complexe *tuberculosis*, ces bactéries sont aussi responsables d'atteintes extra-pulmonaires, notamment génitales, méningées, ganglionnaires, rénales, osseuses, miliaires, etc. D'autres mycobactéries à croissance rapide, dites «atypiques» ou "mycobactéries non tuberculeuses" (MNT), sont responsables de mycobactérioses (**Carbonelle et al., 2003 ; EL Helari et Vergez, 1993**).

Les écrouelles que l'on croyait distinctes de la TB, ont été fort longtemps traitée par des « médicaments » très diverses, issues de plantes ou d'animaux, par le mercure et des drogues de nature minérale (soufre, arsenic, sels de cuivre, etc.) et ce jusqu'au XIX<sup>e</sup> siècle. Parallèlement à cette pratique, au cours des siècles, des traitements un peu plus adaptés à la TB se seraient succédés : la balnéothérapie chez les Grecs, la marche et le séjour en altitude au Xe siècle, puis à la Renaissance, l'isolement des malades dans les établissements préfigurant les sanatoriums (**Bryskier et Couturier, 2003**).

Grâce à la vaccination par le Bacille Calmette et Guérin (BCG), aux antibiotiques [streptomycine, isoniazide, acide para-amino-salicylique (qui n'est plus utilisé), rifampicine, pyrazinamide, éthambutol] et à l'hygiène de la vie, l'incidence tuberculeuse a chuté régulièrement de 5% par an de 1953 à 1985 et l'éradication de la maladie semblait possible pour 2015. Or depuis 1986, la tuberculose est devenue une urgence mondiale. En effet, un tiers de la population mondiale est infecté par *M. tuberculosis*. En 2006, la TB touchait 14,4 millions de personnes (dont 9,2 millions de nouveaux cas c'est-à-dire environ 50% de malades à microscopie positive) et était responsable de 2 millions de décès (**Dye, 2006**).

Les pays d'Asie, de Pacifique Occidentale et d'Afrique enregistrent 83% des cas dont 30 à

50% en Afrique (WHO, 2008).

Parmi les raisons évoquées pour expliquer cette recrudescence de la TB à l'échelon planétaire figurent la précarité, les nombreux conflits entraînant des déplacements et l'expatriation en masse des populations venant des pays à forte endémie, la malnutrition (Spence DPS *et al.*, 1993 ; Gallagher, 1996; Bovet, 2002 ; Van Lettow *et al.*, 2004 ; OMS, 2005), mais surtout la pandémie du VIH/SIDA et l'émergence de souches multirésistantes aux antituberculeux de première intention (Lagrange *et al.*, 2000 ; OMS, 2006).

L'OMS a déclaré la TB maladie de santé publique et a recommandé la stratégie DOTS (acronyme anglo-saxon pour traitement de courte durée sous surveillance directe). Malgré cela, l'escalade globale de la tuberculose, la progression de l'infection à VIH, l'émergence et la diffusion des bacilles multirésistants aux antibiotiques suscitent beaucoup d'inquiétudes (Lagrange *et al.*, 2000). En 2006, parmi 8% de VIH+ chez les nouveaux cas de tuberculose, 85% des cas étaient en Afrique (WHO, 2008). Chaque année, 450 000 à un demi-million de cas de TB à bacilles multirésistants (TB-MR) (résistance au moins à l'isoniazide et à la rifampicine) apparaissent dans les « nouveaux cas » (Zignol *et al.*, 2006 ; OMS, 2009). Le troisième rapport mondial de l'OMS sur la surveillance de la résistance aux antituberculeux montre une prévalence médiane de la résistance à l'un quelconque des antituberculeux de première intention, le plus souvent la streptomycine et/ou l'isoniazide, à 10,7 %, avec des extrêmes de 0 à 57,1 % chez les malades jamais traités auparavant et à 1,2 % (plage de valeurs : 0 -14,2 %) pour la MR. Chez les patients traités auparavant, la prévalence médiane de toutes les résistances est de 23,3 % (extrêmes : 0 - 82,1 %) et de 7,7 % pour la TB-MR (plage de valeurs : 0 - 58,3 %). La résistance s'étend même à des antibiotiques de seconde ligne, d'où l'appellation de tuberculose Ultra-Résistante (TB-UR) (WHO/IUATLD, 2004; OMS, 2006). Ces pourcentages peuvent être sous estimés car en Afrique, excepté quelques pays (Demissie *et al.*, 1997 ; Kuaban *et al.*, 2000 ; Warndorff, 2000 ; WHO/IUATLD, 2004 ; Owusu-Dabo *et al.*, 2006), les tests de sensibilité de *M. tuberculosis* aux antibiotiques sont rarement réalisés. Les plus récentes données du Projet mondial disponible à ce jour montrent que la situation a fléchi dans 116 pays (OMS, 2008).

Au Burkina Faso, l'OMS estime l'incidence tuberculeuse en 2007, toutes formes confondues, à 226 cas pour 100 000 habitants (WHO, 2009). La co-infection TB/VIH y est fréquente ; une étude a révélé que 31,6% des tuberculeux pulmonaires à microscopie positive étaient infectés par le VIH (Diandé *et al.*, 2009a). Le diagnostic de la tuberculose au laboratoire se résume à la microscopie des sécrétions bronchiques. Peu sensible, il est susceptible d'être amélioré par

le traitement des expectorations par l'hypochlorite de sodium 5% (**Diandé et al., 2009b**). Le test de sensibilité de souches tuberculeuses aux antibiotiques non pratiqué en diagnostic de routine reste cependant un maillon important dans le processus de surveillance de la TB-MR et dans l'appréciation de la qualité de la pratique des protocoles standardisés de traitement sur le terrain (**WHO, 1997**). La dernière étude faisant état d'un niveau de résistance de *M. tuberculosis* aux antibiotiques remonte à 1996 à Bobo-Dioulasso (**Ledru et al., 1996**). Plus de dix ans après, il a été observé des échecs de traitement *in vivo* sans pratiquement aucune confirmation bactériologique. Il était donc nécessaire d'entreprendre une étude pour fournir des informations sur la situation actuelle de la tuberculose à bacilles résistants et multirésistants aux drogues anti-bacillaires. Le présent travail avait pour objectif général d'évaluer la résistance du complexe *tuberculosis* aux antibiotiques chez les cas de tuberculose pulmonaire nouveaux ou traités antérieurement, et d'explorer les facteurs de risque associés à la tuberculose à bacilles multirésistants (TB-MR). De façon spécifique il s'agissait :

- ✓ d'isoler et identifier les mycobactéries dans les expectorations,
- ✓ de décrire les types de résistance des isolats de *M. tuberculosis* aux antibiotiques antituberculeux,
- ✓ de comparer les cas de TB-MR aux témoins (malades à bacilles sensibles) au regard des variables qui les caractérisent.

# CHAPITRE 1: REVUES BIBLIOGRAPHIQUES

## 1. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES DES MYCOBACTERIES

### 1.1. Classification

#### 1.1.1. Taxonomie des mycobactéries

Étymologiquement, le terme de *Mycobacterium* provient de deux racines empruntées au grec "Myces" pour champignon et "Bakterion" petit bâton. En fait, ces bactéries n'ont en commun avec les champignons que leur seule propension à se développer en s'étalant à la surface des milieux liquides (**Carbonelle et al., 2003**).

Les mycobactéries appartiennent à l'ordre des Actinomycetales où la famille des Mycobacteriaceae ne comporte qu'un seul genre, le genre *Mycobacterium* (**figure 1**) caractérisé par une propriété tinctoriale essentielle : ce sont des bacilles acido-alcoolo résistants (BAAR). Cette propriété est due à la richesse de leur paroi en lipides qui les rend imperméables aux colorants usuels mais qui fixe intensément les colorants alcalins comme la fuchsine basique et s'oppose à leur décoloration après un traitement conjoint par l'acide et l'alcool. Toutes les mycobactéries sont des BAAR, mais toutes les bactéries acido-résistantes ne sont pas des mycobactéries. En effet, les *Nocardia*, quelques actinomycètes, quelques corynébactéries, sont faiblement acido-résistants (**Carbonelle et al., 2003**).

La définition du genre *Mycobacterium* repose en fait sur trois critères dont l'acido-alcoolo résistance des bacilles, le contenu en GC de l'ADN compris entre 61 et 71 %, et la synthèse d'acides mycoliques de 60 à 90 C libérant des esters de pyrolyse de 22 à 26 C. L'analyse de la composition en acides mycoliques est en outre un élément essentiel pour la caractérisation des différents genres du groupe "genera mycolata" et espèces mycobactériennes (**Bradley, 1973 ; Butler et Guthertz, 2001**). D'autres lipides (acides gras courts ou polyméthylramifiés, alcools gras, phénolglycolipides, peptidoglycolipides) constituent des marqueurs chimiotaxonomiques remarquables pour l'identification de nombreuses espèces (**Vincent, 1995**). Actuellement environ 138 espèces et 11 sous espèces de mycobactéries ont été répertoriées ([www.bacterio.cict.fr](http://www.bacterio.cict.fr)).

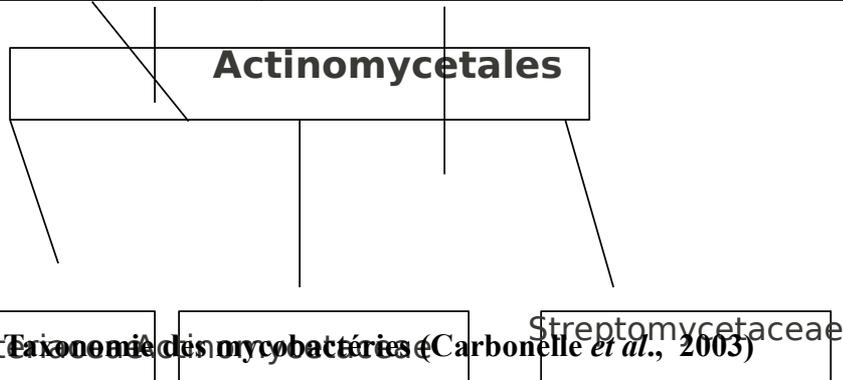


Figure 1.2. Classification des mycobactéries (Carbonelle *et al.*, 2003)

## Famille 1.2. Classification selon le pouvoir pathogène

Le genre *Mycobacterium* peut être subdivisé en trois groupes : les mycobactéries du "Complexe *tuberculosis*" (*M. tuberculosis*, *M. bovis* et *M. BCG*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae* et *M. goodii*), les mycobactéries atypiques et *M. leprae* (www.bacterio.cict.fr).

## Genre

Chez l'homme, *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. ulcerans*, *M. Marinum*, provoquent des infections spécifiques : la tuberculose, la lèpre, l'ulcère de Buruli, le granulome des piscines. Chez les animaux, *M. paratuberculosis* est à l'origine de la maladie de Johne, entérite hypertrophiante des bovidés, *M. bovis* est responsable de la tuberculose des bovidés, *M. Marinum* de celle des oiseaux. Mais les mycobactéries du complexe *avium intracellulare* (MAC) ainsi que les autres mycobactéries non tuberculeuses ne manifestent un pouvoir pathogène qu'en profitant d'une défaillance locale ou généralisée des défenses de l'hôte ; on les appelle encore, pour cette raison, mycobactéries opportunistes.

## Espèces

Ces infections, favorisées par les thérapeutiques immunosuppressives ou par le VIH, ont vu, au cours des vingt dernières années, leur fréquence augmenter. Elles posent des problèmes diagnostiques et leur thérapeutique est difficile (Carbonelle *et al.*, 2003).

### 1.1.3. Classification selon l'importance clinique

En fonction de la signification clinique, les mycobactéries sont classées en 3 groupes majeurs.

#### ✓ Les espèces strictement pathogènes

Les mycobactéries du Complexe *tuberculosis*, *M. leprae*, *M. ulcerans*, *M. paratuberculosis*, *M. haemophilum* et *M. marinum*.

*M. leprae*, responsable de la lèpre chez l'homme est non cultivable sur milieu synthétique.

*M. ulcerans*, agent d'ulcère nécrosant est la seule espèce capable de sécréter une toxine.

*M. paratuberculosis* est l'agent causal de la para-tuberculose, entérite hypertrophiante des ruminants.

*M. marinum* est responsable de granulomes.

*M. haemophilum* provoque des lésions cutanées disséminées en particulier chez les immunodéprimés.

#### ✓ *Les mycobactéries pathogènes opportunistes*

Elles peuvent entraîner des affections humaines appelées mycobactérioses. Ces espèces sont en général responsables des infections pulmonaires chez l'homme et ce même en absence de toute immunodépression, des adénites chez l'enfant et de rares infections osseuses ou cutanées. Contrairement à la tuberculose et à la lèpre, les mycobactérioses ne se transmettent pas entre individu. Il est généralement admis que la source d'infection est l'environnement où ces mycobactéries sont largement répandues (**Phillips et von Reyn, 2001**).

##### ○ *Classification des mycobactéries non tuberculeuses*

La classification des mycobactéries non tuberculeuses en 4 groupes (**Runyon, 1959**), basée sur les critères phénotypiques : la pigmentation et la vitesse de croissance. Les groupes I, II et III ne renferment que les organismes à croissance lente alors que le groupe IV ne comprend que ceux à croissance rapide.

Le groupe I de Runyon se compose des espèces photochromogènes dont les colonies se pigmentent en présence de la lumière (*M. kansasii* et *M. marinum*).

Le groupe II, inclut les bactéries scotochromogènes, dont les colonies sont pigmentées en présence ou en absence de la lumière (*M. gordonae*, *M. scrofulaceum*).

Le groupe III comprend les non chromogènes, qui donnent des colonies non pigmentées (*M. avium*, *M. intracellulare* et *M. xenopi*).

Le groupe IV, regroupe les espèces à croissance rapide, pigmentées ou non (*M. fortuitum* et *M. chelonae*).

#### ✓ *Les espèces saprophytes ou commensales*

Elles ne sont jamais ou rarement responsables d'infection (**Runyon, 1959**).

##### **1.1.4. Classification selon la vitesse de croissance**

Selon la vitesse de croissance sur les milieux de culture à température optimale, le genre *Mycobacterium* se divise en deux groupes: les mycobactéries à croissance lente et les mycobactéries à croissance rapide (**Runyon, 1959**). Les mycobactéries à croissance lente nécessitent plus de 7 jours jusqu'à 3 mois pour former des colonies visibles, elles ont un temps de génération compris entre 12 et 24 heures, alors que celles à croissance rapide ont un temps de génération qui varie entre 2 et 6 heures avec formation de colonies visibles en moins

de 7 jours.

## 1.2. Morphologie et structure

Les mycobactéries sont aérophiles. Morphologiquement, elles varient de la forme coccoïde à celle en bâtonnet (0,3 à 0,6µm de large et 0,5 à 6 µm de long). Les bacilles sont immobiles, et non sporulés. La morphologie des colonies varie de lisse à rugueux selon les espèces décrites (**Good et Shinnick, 1998**). L'appellation *Mycobacterium* est due à la croissance en pseudo mycélium rudimentaire dans certaines conditions. La propriété bien connue du genre est la capacité de leur paroi cellulaire à résister à la décoloration avec l'acide dilué dans de l'alcool après coloration d'où le terme de bacille acido-alcool résistant (BAAR). Mis à part le BAAR, une autre caractéristique des mycobactéries est sa forte teneur en lipides dans la paroi cellulaire. L'épaisseur de la paroi cellulaire est unique en son genre, elle est composée de 4 couches, dont la première est la plus inerte et est constituée de peptidoglycane (**figure 2**). Les 3 autres couches sont composées de lipides sous différentes formes d'acides mycoliques, de glycolipides. La paroi représente jusqu'à 60% de la matière sèche de la bactérie. Cette caractéristique de la paroi contribue à résister à l'action des agents chimiques (base et acide) et à sa nature hydrophobe qui favorise le flottement de l'organisme à la surface de milieu hydrique. La paroi intégrale est relativement imperméable à de fortes concentrations de base, mais elle devient pénétrable, lorsque la solution basique est associée au phénol (**Jawetz et al., 1968**).

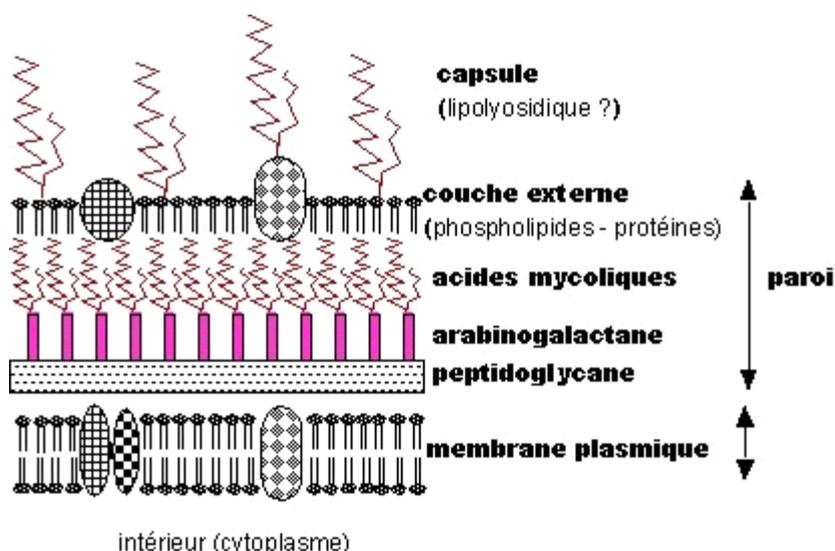


Figure 2 : Structure du *Mycobacterium* (Source : Wikipédia ; [www.bacterio.cict.fr](http://www.bacterio.cict.fr))

## 1.3. Caractère physico-chimique

Les mycobactéries sont très sensibles à la chaleur, à la lumière solaire, aux rayons X et aux

UV ; de même, elles sont très sensibles aux produits liposolubles comme l'alcool et l'éther. Leur qualité de bacilles acido-alcool résistants ne s'adresse qu'à leur résistance à la décoloration. Elles résistent cependant au froid et à la dessiccation par lyophilisation, leur résistance allant jusqu'à quelques années de survie à l'état desséché et au [froid](#). Elles sont plus résistantes que les bactéries usuelles aux désinfectants chimiques ( $H_2SO_4$ , NaOH, détergents) hydrosolubles. Elles résistent également aux [enzymes](#) des [phagocytes](#) (les [lysosomes](#) ne contiennent que peu de [lipases](#)).

## 1.4. Caractères cultureux

### 1.4.1. *M. tuberculosis*

*M. tuberculosis* est aérobie stricte, cultive entre 30 et 40°C avec une température optimale à 35°-37°C et à pH 6,7-6,9. Son isolement sur milieu de Löwenstein-Jensen additionné de 0,75% de glycérine est très lente (multiplication toutes les 20 heures en moyenne). Sur ce milieu, les colonies qui se développent en 3 à 4 semaines ont un aspect caractéristique [**figure 3 (A et B)**]. Si le milieu est bien aéré (ni humide, ni desséché), elles sont sèches, verruqueuses (rugueuses), en « chou fleur ». Elles peuvent atteindre 5 à 10 mm de diamètre d'où elles sont dites eugoniques. Elles sont de couleur crème, se détachent facilement du milieu de culture et se dispersent mal dans l'eau.



A Source: [www.recherche-fr.com/bk](http://www.recherche-fr.com/bk)

Colonies de *Mycobacterium tuberculosis*





*tuberculosis* possède les deux caractères tandis que *M. bovis* en est dépourvu. La catalase thermolabile à 68 °C est absente chez toutes les trois espèces (**Carbonelle et al., 2003**).

## **1.6. Propriétés antigéniques**

Les mycobactéries sont très riches en lipides (20 % du poids sec du bacille) : ils représentent 60 % des constituants de la paroi et confèrent à la bactérie son acido-alcool résistance, et son insensibilité à des agents chimiques. Les acides mycoliques des mycobactéries se caractérisent par de longues chaînes d'atomes de carbone (environ 90) isolés de la fraction lipidique après une saponification prolongée (80 heures). Ils sont porteurs de fonctions oxygénées (groupes méthoxyl et hydroxyl) et constituent le support moléculaire de l'acido-alcool résistance. La connaissance du profil des acides mycoliques mycobactériens peut avoir un intérêt diagnostique certain. L'acide tuberculo-stéarique (acide R-10-méthyl-octadécanoïque) est recherché à partir des crachats par chromatographie gazeuse avec spectrométrie de masse couplée à la surveillance ionique, ou dans le sang par HPLC à partir du sang.

Les glucides présents sous forme de polysaccharides jouent un rôle important dans la formation des anticorps circulants, qui sont dépourvus de rôle immunitaire. Par contre, certains antigènes polysaccharidiques ont un rôle diagnostique. Tel est par exemple le cas de lipoarabinomannan (LAM) qui est détecté par ELISA (antigen capture ELISA). De même, les glycolipides et les tréhaloses sont utilisés dans la détection des cas de TB.

Les protéines sont le support de l'activité de la tuberculine ou PPD pour "*purified protein derivative*". Elles sont encore imparfaitement connues. Deux nouvelles protéines "*early secretory antigenic target 6*" (ESAT-6) et "*culture filtrate protein 10*" (CFP-10) ont été découvertes. Compte tenu de l'importance de leurs propriétés antigéniques, elles ouvrent la voie à de nouvelles méthodes diagnostiques. Toutefois, elles ne sont pas spécifiques de *M. tuberculosis* (**Gadola, 2006 ; Blanc et al., 2007; Okamba et al., 2008**). Par contre, les antigènes glycolipidiques LOS (lipo-oligosaccharides), DAT (diacétyltréhalose) et PGTLb1 (phtiocérol dimycosérate), mis en évidence par des méthodes sérologiques, sont spécifiques. Leur utilisation a permis d'obtenir des résultats significativement meilleurs qu'avec le test basé sur l'antigène protéique A60. La réactivité de sérums humains vis-à-vis d'un antigène 45/47 kDa de *M. tuberculosis* a été à la base de la technique sérologique par empreintes mise au point pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire (**Diagbouga et al., 1997**). Le complexe antigénique A60 fait partie de la famille des Antigènes Macromoléculaires Thermostables (AMT) qui sont composés de protéines, polysaccharides et

lipides. Ce complexe A60 est utilisé dans les tests "ELISA d'Anda Biologicals" pour la détection de mycobactérioses (détection d'IgG, IgA et IgM anti-mycobactéries). Ailleurs, ces tests sont utilisés dans le diagnostic et le pronostic de la tuberculose (**Charpin et al., 1990 ; Kaustova, 1996**).

## 2. EPIDEMIOLOGIE

### 2.1. Habitat

Les mycobactéries du "Complexe *tuberculosis*" ne sont pas telluriques et ne sont retrouvées que chez les hôtes animaux. L'homme et les bovidés sont les plus particulièrement atteints par la tuberculose; mais le chien, le chat, le porc, les oiseaux et plus rarement le mouton et le cheval peuvent aussi être atteints.

- ✓ *Mycobacterium tuberculosis* est rencontré chez les primates mais également chez l'alpaga, le rhinocéros, l'éléphant, certains cervidés, le perroquet et les carnivores domestiques.
- ✓ *M. bovis*, est rencontré chez les ongulés (bovins, bison, buffle, grand koudou, oryx, cerf, sanglier...) mais également chez le blaireau, le furet, le hérisson, les primates, les grands carnivores (lion, tigre...), l'otarie, le perroquet et les petits carnivores domestiques (**Hars, 2001-2002**).
- ✓ *M. africanum* est rencontré chez les primates.
- ✓ *M. microti* est isolé du campagnol, rencontré également chez la vigogne et suspecté chez le chat et les bovins.

Les mycobactéries non tubeculeuses sont retrouvées dans l'environnement hydro-tellurique à partir duquel l'homme et les animaux se contaminent. Il en résulte que si on peut envisager, à terme, par le dépistage et le traitement bien conduit de la tuberculose et de la lèpre, l'élimination de ces maladies, il n'en est pas de même pour les mycobactéries atypiques (**Carbonelle et al., 2003**).

- Le groupe *avium* comprend :
  - ✓ *Mycobacterium avium* subsp. *avium*, rencontré chez les oiseaux (gallinacés, perroquets, rapaces...), mais également chez les suidés, les primates, certains cervidés, le kangourou et chez de nombreuses espèces animales domestiques et sauvages. *Mycobacterium avium* subsp. *avium* a l'éventail de pathogénicité le plus important de toutes les mycobactéries.
  - ✓ *M. avium* subsp. *silvaticum*, rencontré chez le pigeon ramier, la grue et le cerf.

- ✓ *M. avium* subsp. *paratuberculosis* isolé chez de nombreux animaux domestiques et sauvages (cervidés, mouflon, bouquetin, lapin, renard, hermine...), et rencontré chez les primates chez lesquels il joue peut-être un rôle dans certaines colopathies chroniques de l'homme.

## 2.2. Répartition géographique des mycobactéries

### 2.2.1. Dans le monde (particularité de certaines espèces)

Il existe des souches dysgoniques de *M. tuberculosis* qui poussent mal : ce sont des souches résistantes de haut niveau à l'isoniazide (>1mg/L), à culture difficile et lente, parfois nulle sur milieu de Löwenstein-Jensen; meilleure sur milieu à pH acide ou sur milieu enrichi de 0,25% de pyruvate. Lorsque la résistance à l'isoniazide atteint 5 à 10 mg/L, il y a habituellement perte de l'activité catalasique mesurée à la température du laboratoire (22°C) et perte de la virulence pour le cobaye.

Des souches d'origine asiatique : colonies minuscules, à surface lisse ou rugueuse aux caractères biochimiques identiques à ceux de *M. tuberculosis* de type européen sauf parfois une sensibilité au TCH. Leur croissance est favorisée par le pyruvate de sodium.

Des souches vertes, parce qu'elles métabolisent le vert malachite, antiseptique contenu dans le milieu de Löwenstein-Jensen.

La sous-espèce "*muris*" de *M. tuberculosis*, aujourd'hui renommée *M. microti*, a été identifiée chez la chauve-souris (*Microtus agrestis*) en Angleterre (**Wells et Oxon, 1937**). Depuis, *M. microti* a été également décelé sur d'autres animaux à sang chaud tel que le cobaye, le porc, le lapin, le lama ou le chat. La morphologie particulière des bâtonnets incurvés en "croissant" dans la coloration acido-résistante et le fait que ce microorganisme ne soit quasiment pas viable en culture peut suggérer *M. microti*. Cependant, il n'est généralement pas possible de diagnostiquer avec certitude l'espèce par les tests biochimiques courants. *M. microti* est en revanche typisable par certaines techniques de biologie moléculaire (Spacer Oligonucleotide Typing ou "spoligotyping" (**Kamerbeek et al., 1997**), qui permettent de distinguer des constellations génomiques qui lui sont propres.

### 2.2.2. En Afrique

Il existe des souches de *M. tuberculosis* dites anormales. C'est le cas des souches qui ont été isolées à Madagascar et qui sont avirulentes pour le cobaye et résistantes à la Thiacetazone (Tb I).

*M. africanum*, isolé à Dakar en 1966 au cours d'une enquête thérapeutique menée par l'Union Internationale Contre la Tuberculose, est surtout répandu sur le continent africain (**Haas et al.,**

1997). En raison de son origine, il a été appelé *M. africanum*, quoiqu'on le retrouve parfois sous les latitudes européennes du fait de la mobilité croissante des populations. *M. africanum* représente 20 à 40% des souches isolées au Sénégal et en Mauritanie. Du point de vue physiologique et biochimique, on constate une forte variabilité selon son origine géographique (ex : "type Sierra Léone", "type Ouganda", c'est-à-dire qu'il présente aussi bien des caractéristiques diagnostiques de *M. tuberculosis* que les propriétés de *M. bovis* (Haas et al., 1997). La définition microbiologique de cette espèce est restée longtemps controversée. Cependant, on sait depuis que *M. africanum* se distingue des autres membres du complexe *tuberculosis* sur le plan de la génétique moléculaire, notamment par le nombre variable de séquences répétées en tandem ("tandem repeats" (Frothingham et al., 1999 ; Viana-Niero et al., 2000).

En Afrique du sud, la tuberculose à *Mycobacterium bovis* infecte le Buffle (*Syncerus caffer caffer*) depuis le début des années 90 et le Grand Koudou (*Tragelaphus strepsiceros*) depuis 1996. Elle représente un problème sanitaire majeur dans le Parc National Kruger où les grands prédateurs (lions, léopards...) sont maintenant contaminés et où les risques de transmission aux bovins sont importants.

*M. canettii*, le benjamin du complexe *tuberculosis* a été isolé chez une fillette somalienne en 1969 par Georges Canetti et figure dans la collection de bactéries de l'Institut Pasteur. Des études ont surtout révélé *M. canettii* en Afrique et des malades européens y ayant séjourné (Miltgen et al., 2002 ; Van Soolingen et al., 1997).

### 2.3.3. Au Burkina Faso

Au Burkina Faso, peu d'études ont été menées sur les mycobactéries. Toutefois, on rencontre au moins les trois espèces du Complexe *tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis* et *M. africanum*) ainsi que les mycobactéries non tuberculeuses (Ledru et al., 1996).

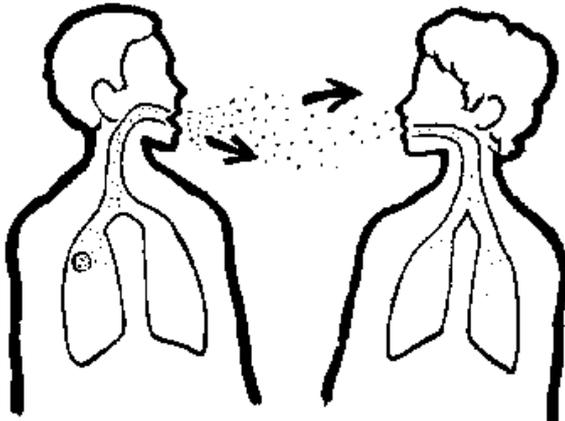
## 2.3. Transmission

L'homme se contamine surtout en inhalant les aérosols contenant des bacilles de Koch et émis dans les crachats d'un sujet atteint de tuberculose pulmonaire lorsque celui-ci tousse et/ou éternue (Figure 6 A et B). Il peut également se contaminer par voie digestive en absorbant du lait ou des produits laitiers souillés. Cependant, le contact avec la mycobactérie n'est pas synonyme de maladie. L'importance de la contamination est fonction:

- ✓ du nombre des bacilles de Koch expirés dans l'air qui dépend: du site anatomique de l'infection (larynx, poumons), de l'existence d'une caverne, de la présence de toux ou de manœuvres expiratoires forcées, des procédures susceptibles d'augmenter la toux

(expectoration induite, aérosols, fibroscopie bronchique), de la capacité du sujet à ouvrir la bouche en toussant,

- ✓ de la durée des symptômes,
- ✓ de la proximité des sujets,
- ✓ de la fréquence des contacts.



TB germs spread through the air

A

## TUBERCULOSE



B

### Transmission

- Voie aérienne
- Malades bacillifères

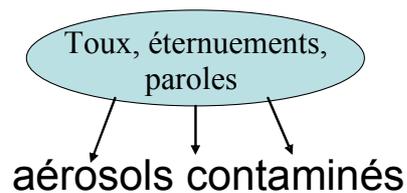


Fig. 6 (A et B) : Transmission des bacilles tuberculeux (source : [www.bacterio.cict.fr](http://www.bacterio.cict.fr))

### 3. PHYSIOPATHOLOGIE

Emis par une source infectieuse, le plus souvent un tuberculeux pulmonaire, dans les gouttelettes de Pflügge, *M. tuberculosis* est inhalé et atteint l'alvéole pulmonaire à travers la

muqueuse bronchique. La maladie résulte de la multiplication du bacille et de ses interactions avec l'hôte infecté (immunité à médiation cellulaire, activation des lymphocytes T et des macrophages). *M. tuberculosis* ne produit pas de toxine.

A la primo-infection se succèdent les différentes formes :

- ✓ **Chancre d'inoculation** : les bacilles inhalés (même en nombre extrêmement faible jusqu'à 1), par l'intermédiaire des "gouttelettes de Pflügge", se fixent dans un lobe pulmonaire : c'est le chancre d'inoculation. La réaction inflammatoire amène des macrophages dans lesquels les bacilles vont se multiplier et qu'ils vont détruire pour en atteindre d'autres. Les récepteurs des macrophages fixant les BK sont ceux du complément, de la transferrine... Le bacille apporte ou utilise une protéine particulière, TACO, pour provoquer l'inhibition de la fusion entre phagosome et lysosome. Il est aussi capable de limiter l'acidification due à la pompe à protons du phagosome.
- ✓ **Adénopathies** : les bacilles vont se disséminer vers les ganglions (adénopathies) puis vers l'ensemble de l'organisme de l'individu.

Dans tous les cas, le sujet infecté développe une hypersensibilité cellulaire à la tuberculine (donc au bacille). Il y a donc activation de lymphocytes T Tueurs.

- ✓ **Formation de follicules** : les macrophages sont alors stimulés de façon plus efficace contre les bacilles qu'ils vont attaquer. Ils se transforment en cellules multinucléées dites cellules géantes qui entourent le chancre d'inoculation formant un follicule ou granulome où a lieu la "caséification" appelée nécrose solide comme dans le fromage sous l'action du "*Tumor necrosis Factor*" ou TNF alpha. L'ensemble des follicules forme une formation tuberculoïde visible macroscopiquement. Les follicules s'entourent d'une capsule. L'individu se défend donc, comme souvent, en confinant le microorganisme pathogène. Les bacilles sont généralement tués, en particulier par manque d'oxygène, mais peuvent rester à l'état quiescent dans les follicules, situation relativement fréquente avec les pathogènes.

L'évolution ultérieure peut se faire soit vers une guérison spontanée, avec stérilisation totale et guérison acquise, soit vers la maladie elle-même, rarement précoce.

## 4. POUVOIR PATHOGENE

### 4.1. Pouvoir pathogène naturel : la tuberculose

La pénétration du bacille dans l'organisme ne conduit à la maladie que dans 10 % des cas en moyenne. Dans 90 % des cas, la multiplication des bacilles s'arrête rapidement. C'est la

primo-infection simple qui se traduit par le développement de l'hypersensibilité tuberculique et de l'immunité de surinfection. Le sujet n'est pas malade, il est simplement infecté. La maladie tuberculeuse est habituellement provoquée par la multiplication des bacilles de la primo-infection soit immédiatement soit après un temps de latence, les bacilles ayant survécu dans les lésions primaires ou de réinfection endogène. Plus rarement, elle l'est par de nouveaux bacilles inhalés d'une nouvelle source de contamination ou de réinfection exogène. Deux types de localisation peuvent s'observer. Les localisations pulmonaires sont les plus fréquentes, 90 % des cas environ (**EL Helari et Vergez 1993**) et les plus dangereuses au point de vue épidémiologique car ce sont elles qui permettent la transmission du bacille. Les localisations extra-pulmonaires sont généralement pauvres en bacilles mais invalidantes telle que l'ostéo-arthrite ou gravissimes comme la méningite.

Les signes spécifiques de la tuberculose pulmonaire sont la toux prolongée pendant plus de 15 jours, les hémoptysies et les douleurs thoraciques. Ils sont habituellement associés à un ensemble de signes généraux non spécifiques (asthénie, amaigrissement, anorexie et fièvre vespérale). Ce sont eux qui motivent l'examen radiographique pulmonaire et la recherche de bacilles dans les sécrétions bronchiques.

#### **4.2. Populations de bacilles de Koch**

On peut distinguer trois populations différentes de bacilles de Koch (**Figure 7**) suivant le type de lésion (**Ait-Khaled et al., 1997, Grosset et al., 1990**):

- ✓ la première population est constituée de bacilles métaboliquement actifs et en multiplication continue et rapide dans le caséum liquéfié à pH neutre, qui recouvre les parois de la caverne pulmonaire. On estime la taille de cette population à environ  $10^8$  (de  $10^7$  à  $10^9$ ) bacilles. Parmi ces bacilles qui sont normalement sensibles aux antibiotiques, il existe des mutants résistants aux antibactériens dont la fréquence moyenne est de  $10^{-6}$ .
- ✓ La deuxième population est constituée de bacilles situés dans un environnement acide, spécialement à l'intérieur des phagolysomes des macrophages. Ces bacilles recouverts d'anticorps se multiplient probablement très lentement, de sorte que la taille de la population intracellulaire de bacilles ne dépasse pas  $10^5$ .
- ✓ La troisième population est constituée par les bacilles situés dans les zones caséuses solides. Ceux-ci se multiplient lentement ou par intermittence parce qu'ils sont dans un environnement qui leur est défavorable. La taille de cette population est inférieure à  $10^5$ .

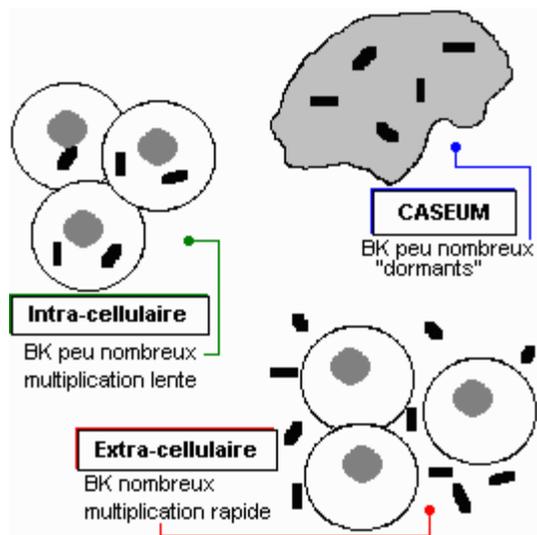


Figure 7 : Les 3 populations bactériennes de BK (source : [www.bacterio.cict.fr](http://www.bacterio.cict.fr))

### 4.3. Pouvoir pathogène expérimental

Le cobaye est très sensible au BK et fait une tuberculose généralisée qui le tue. Le phénomène de Koch fournit une illustration expérimentale de cette particularité : l'inoculation de BK vivants à un cobaye sain provoque une tuberculose généralisée mortelle en trois mois. Si cette première inoculation est suivie, après quelques semaines, d'une deuxième dose, on voit apparaître, au point d'injection, une ulcération inflammatoire suivie d'une nécrose et d'une cicatrisation de la lésion. Cet effet est également obtenu si on injecte de la tuberculine.

Le lapin inoculé guérit. Le singe en captivité est très sensible et ne résiste pas. Les bovidés ne sont pas réceptifs à *M. tuberculosis*.

## 5. DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE DE LA TUBERCULOSE

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

### 5.1. Diagnostic direct : méthodes classiques

Le diagnostic bactériologique direct comprend plusieurs étapes : le prélèvement du produit pathologique, l'examen microscopique, la culture qui est la méthode de référence l'identification et l'antibiogramme.

#### 5.1.1. Prélèvements

- ✓ Sécrétions bronchiques : expectorations, liquides d'aspirations bronchiques ou de tubage. Pour les crachats, trois (3) prélèvements en deux jours sont recommandés en raison de l'excrétion intermittente des bacilles.
- ✓ Urines : 3 prélèvements après restriction hydrique.

- ✓ Autres prélèvements : liquide céphalorachidien, liquide d'épanchement, pus etc.

### **5.1.2. Examen microscopique**

Trois méthodes de coloration sont communément utilisées pour la mise en évidence des BAAR. Deux techniques, Ziehl-Neelsen (ZN) et Kinyoun qui utilisent la microscopie optique pour observer les BAAR colorés en rouge par la carbo-fuchsine et une méthode utilisant le microscope à fluorescence pour visualiser les BAAR fluorescents suite à leur coloration à l'auramine O.

L'examen microscopique des frottis des sécrétions bronchiques est relativement peu sensible car nécessite un nombre important de bacilles ( $10^4$  BAAR/ml de crachat pour la technique de Ziehl-Neelsen) dans le prélèvement pour être positif. En outre, l'acido-alcool résistance est spécifique des mycobactéries mais pas des bacilles de la tuberculose.

La microscopie reste cependant la méthode de laboratoire la plus abordable pour détecter la présence des BAAR. Elle est très utile pour identifier les cas contagieux (tuberculose pulmonaire cavitaire), pour suivre l'évolution de la TB chez les patients sous traitement. Elle donne des résultats rapides, ce qui raccourcit le délai pour rendre les résultats aux malades.

Il sert également à confirmer la présence de BAAR dans les milieux de culture. Les résultats de l'examen microscopique sont rendus de manière semi quantitative (**Enarson et al., 2000**).

### **5.1.3. Isolement**

#### **✓ Intérêt de l'isolement**

La culture de la mycobactérie reste le seul moyen de diagnostic de certitude. Elle permet de mettre en évidence la bactérie en cause grâce entre autres aux tests biochimiques conventionnels. Elle permet aussi d'évaluer la résistance aux antituberculeux. Même si son application thérapeutique est rarement utilisée, son intérêt reste important pour la santé publique, notamment pour la surveillance de la prévalence des souches résistantes. Le test de sensibilité aux drogues antibacillaires non pratiqué en diagnostic de routine reste en effet un maillon important dans le processus de surveillance de la TB-MR et dans l'appréciation de la qualité de la pratique des protocoles standardisés de traitement sur le terrain (**WHO, 1997**).

#### **✓ décontamination et milieux d'isolement**

Les produits pathologiques provenant de cavités ouvertes (sécrétions bronchiques, urines...) sont décontaminés entre autres par la soude 5% avant d'êtreensemencés sur le milieu de Löwenstein-Jensen. Enrichi de pyruvate, il permet une meilleure croissance des mycobactéries dysgoniques (*M. bovis*).

Les milieux de Middlebrook 7H10 - 7H11 sont des milieux gélosés, plus souvent utilisés pour

l'étude des antibiotiques que pour l'isolement.

Des milieux liquides sont également utilisés par des laboratoires disposant des moyens.

La durée d'incubation doit être suffisamment long (72 à 90 jours) avant de déclarer la culture négative.

#### 5.1.4. Identification

Elle se fonde sur la coloration de Ziehl-Neelsen, le délai d'apparition des colonies, leur morphologie et aspect, les caractères biochimiques (catalase, Niacine, nitrate réductase..).

Ces étapes permettent de distinguer les espèces du Complexe *tuberculosis* entre elles. Le **tableau 1** résume les caractères d'identification des bacilles du complexe *tuberculosis* et des mycobactéries atypiques (EL Helari et Vergez, 1993).

**Tableau 1:** Caractères d'identification des bacilles du complexe *tuberculosis* et des mycobactéries atypiques

<i>Mycobacterium</i>	Pigment		Culture				Niac	Catalase		NIT	TCH
	P	S	R	E	36°C	42°C		22°C	68°C		
	<i>tuberculosis</i>	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
<i>Bovis</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>africanum</i>	-	-	-	-	+	-	V	+	-	V	V
BCG	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>kansasii</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
<i>mainum</i>	+	-	+	-	F	-	V	+	F	-	+
<i>gordonae</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+
<i>xenopi</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+
<i>scrofulaceum</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+
<i>Avium</i>	-	-	-	+	+	V	-	+	+	-	+
<i>ulcerans</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+
<i>fortuitum</i>	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
<i>smegmatis</i>	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+

Sources : EL Helari et Vergez, (1993)

+ : test positif ; Niac : production d'acide nicotinique ;

- : test négatif ; NIT : réduction des nitrates en nitrites ;

V : résultat variable ; 36°C : culture à 36°C ;

F : faiblement positif ; 42°C : culture à 42°C ;

P : photochromogène ; 70°C : active à 70°C ; S : scotochromogène ; E : colonies eugoniques ;

R : colonies R ; 22°C : active à 22°C ; TCH : acide thiophène-2-carboxylique

### **5.1.5. Etude de la sensibilité aux antituberculeux**

La mesure de la sensibilité aux antibiotiques de la souche de mycobactérie du Complexe *tuberculosis* vient compléter son isolement et son identification. Différentes méthodes sont utilisées :

- ✓ méthode classique manuelle de référence : la résistance des BK aux antibiotiques est la conséquence de mutations. On détecte, dans la population de bacilles infectant un malade, les mutants résistants à des concentrations d'antibiotiques voisines de celles obtenues *in vivo* au cours des traitements. Si la proportion de mutants résistants dépasse le taux de 1%, le traitement risque d'être inefficace. C'est la méthode des proportions selon **Canetti G, et al., (1963)** sur milieu à l'oeuf de Löwenstein-Jensen qui est utilisée.
- ✓ Il existe des méthodes semi-automatiques et automatiques sur milieu gélosé 7H10, 7H11 ou sur milieu liquide (technique Bactec).

### **5.1.6. Autres techniques d'isolement et d'identification**

#### **✓ Les techniques d'amplification génique :**

Les techniques d'amplification génique consistent à amplifier et détecter une séquence nucléique spécifique. Ces méthodes ont la potentialité d'identifier spécifiquement les bacilles tuberculeux en quelques heures, directement dans les échantillons cliniques, sans que le préalable d'une culture bactérienne soit nécessaire. Elles regroupent différentes techniques. Les plus répandues sont la réaction en chaîne par polymérase (PCR), la réaction en chaîne par ligase (RCL), l'amplification iso thermique d'ARN via un intermédiaire d'ADN.

Des techniques rapides sont également utilisables pour identifier une souche isolée : hybridation de l'ADN et de l'ARN bactérien avec une sonde marquée. Les sondes aujourd'hui disponibles dans le commerce sont les sondes Accuprobe (GenProbe) qui hybrident avec une séquence nucléotidique d'ARN spécifique du complexe *tuberculosis*. Il faut ensuite faire l'identification de l'espèce au sein du complexe *tuberculosis* : celle-ci a un intérêt épidémiologique et ne peut se faire que par les méthodes classiques : réduction des nitrates en nitrites, Niacine test, sensibilité au TCH (**Clarridge et al., 1993 ; Mercedes María et al., 2004**).

#### **✓ Système biphase**

Il est composé d'un flacon de milieu liquide (7H) surmonté de lames de milieux solides. L'échantillon est introduit dans le flacon et après 48 heures, les milieux solides sont ensemencés par retournement. Le système détecte *Mycobacterium tuberculosis* en une vingtaine de jours.

✓ **Méthode respirométrique, radiométrique, ou BACTEC :**

Elle permet de détecter rapidement la croissance des mycobactéries en milieu liquide. Elle est basée sur la mesure du CO<sub>2</sub> marqué par le carbone 14 (C<sup>14</sup>) libéré par les mycobactéries au cours de leur croissance. La croissance de mycobactéries est détectée au bout de 8 à 14 jours d'incubation des cultures des prélèvements par la mesure des quantités minimales de CO<sub>2</sub> marqué. Cette technique peut être utilisée pour réaliser les antibiogrammes.

## **5.2. Diagnostic indirect**

### **5.2.1. Tests Immuno-Chromatographiques (ICT)**

Le test ICT ou kit ICT *tuberculosis* Amrad est un test rapide basé sur la détection d'anticorps contre *Mycobacterium tuberculosis* dans le sang total, le plasma, le sérum ou les fluides des sites extra pulmonaires tels que les fluides pleuraux, péritonéaux ou lymphatiques chez les patients atteints de tuberculose. Le test utilise de nombreux antigènes sécrétés par *Mycobacterium tuberculosis* pendant une infection active. Il s'est avéré négatif chez les sujets infectés par le VIH, donc il n'est pas efficace dans le diagnostic de la tuberculose dans les pays à forte prévalence de l'infection par le VIH.

### **5.2.2. Méthodes immunologiques**

De nombreux essais ont été effectués pour mettre au point une sérologie spécifique de la tuberculose. Jusqu'ici, aucun d'entre eux n'a donné de résultats satisfaisants probablement parce que les antigènes utilisés, aussi purifiés soient-ils, contiennent des déterminants antigéniques présents chez l'ensemble des mycobactéries, et entraînent des réactions croisées entre *Mycobacterium tuberculosis* et les autres mycobactéries.

Il existe des tests immunologiques *in vitro* qui permettent de détecter les antigènes ESAT-6, CFP-10, TB7.7 qui sont spécifiques de *M. tuberculosis*. Deux types de réactions sont recherchés :

- ✓ interféron- $\gamma$  à partir des lymphocytes T du sujet contact (Q) : c'est le Tests Interféron dit Quantiféron TB, test Elispot,
- ✓ lymphocytes producteurs d'interféron (T).

Si le diagnostic est positif, il peut s'agir d'une infection tuberculeuse latente ou maladie.

## 6. TRAITEMENT DE LA TUBERCULOSE

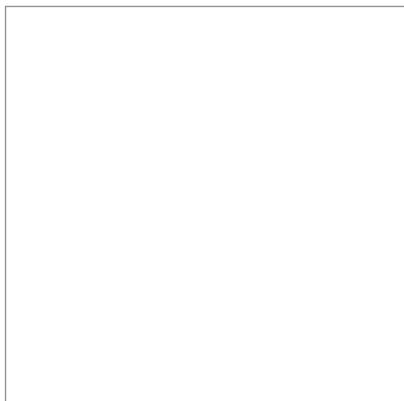
L'OMS préconise une stratégie thérapeutique standardisée (WHO, 1997).

### 6.1. Les médicaments antituberculeux

C'est en 1944 que Waksman découvrit la streptomycine, premier antibiotique actif sur le bacille tuberculeux. Puis vinrent l'acide para-amino-salicylique (PAS) en 1949 (qui n'est plus utilisé de nos jours), l'isoniazide (INH) en 1952, suivis de nombreux autres produits dont la rifampicine en 1967.

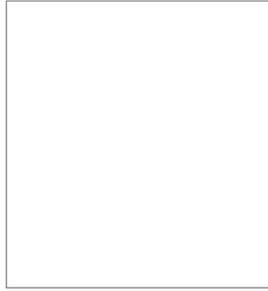
Les cinq antituberculeux dits majeurs sont : pyrazinamide, isoniazide, éthambutol, rifampicine et streptomycine dont les structures moléculaires sont présentées ci-dessous [Figure 8 (A, B, C, D)].

L'isoniazide et la rifampicine sont de puissants bactéricides actifs contre les 3 populations bactériennes de BK (figure 7). La streptomycine est efficace contre les germes en multiplication rapide. L'éthambutol est bactériostatique. Pyrazinamide est actif en milieu acide contre les bacilles intracellulaires. En association à 3 autres antituberculeux majeurs, il permet de raccourcir la durée du traitement. La pénétration des antituberculeux dans les méninges et le liquide céphalorachidien est aléatoire. Elle est bonne pour l'isoniazide et le pyrazinamide, moins bonne pour la rifampicine, la streptomycine et l'éthambutol, qui pénètrent surtout lorsque les méninges sont enflammées, soit lors des stades précoces de la maladie. Ces éléments pharmacocinétiques ont été déterminants pour définir les schémas thérapeutiques actuellement standardisés par catégories de cas (Leuenberger *et al.*, 2000). Les médicaments sont prescrits en une seule prise quotidienne, de préférence le matin à jeun, pour assurer une résorption optimale et obtenir un taux sérique élevé.

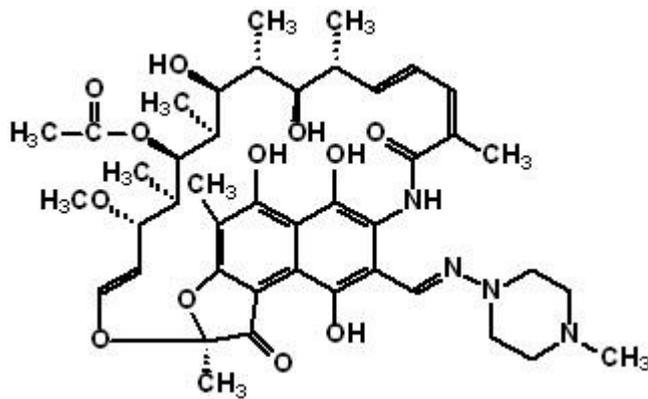


**Figure 8A** Structure moléculaire de l'éthambutol (E)

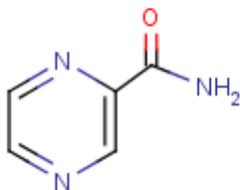
(source : Richard *et al.*, 2005)



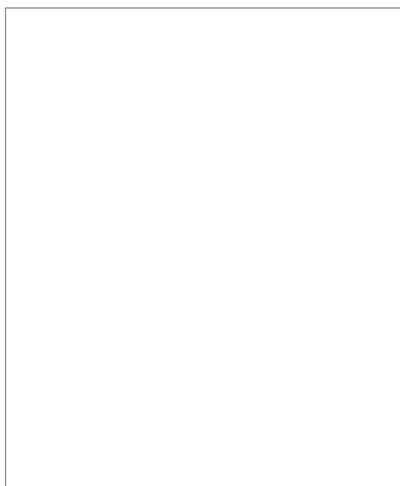
**Figure 8B :** Structure moléculaire de l'isoniazide (H) (Source : **Wikipédia**)



**Figure 8C :** Structure moléculaire de la rifampicine (R) (Source : [Gadret et al., 1975](#))



**Figure 8D :** Structure moléculaire du pyrazinamide (Z) (Source : **Wikipédia**)



**Figure 8E** : Structure moléculaire de la streptomycine (S) (Source : **Wikipédia**)

## **6.2. Traitements standardisés**

### **6.2.1. Traitement curatif**

L'association des 4 médicaments antituberculeux majeurs comprenant le pyrazinamide dans la phase initiale du traitement permet d'effectuer un schéma dit «court» où les 4 médicaments sont administrés ensemble pendant 2 mois puis deux d'entre eux (H et R) sont administrés pendant 4 mois soit un total de 6 mois (2 HRZE/4HR ou HRZS/4 HR) : ce sont les régimes de catégorie 1 ou de 1<sup>ère</sup> ligne. Ces médicaments sont prescrits selon un schéma standard, en une seule prise quotidienne (de préférence sous forme d'association médicamenteuse), en traitement directement supervisé (*directly observed therapy =DOT*) (**Bednall et al., 1999**). Les régimes de catégorie 2 (= régimes de retraitement) ou de 2<sup>ème</sup> ligne (2 HRZE/6HE ou 2HRZS/6HE) durent 8 mois et concernent les rechutes, échec, reprise après abandon et autres.

### **6.2.2. Traitement préventif**

Le BCG confère une protection de l'ordre de 80% vis-à-vis des formes graves de TB telle que la méningite tuberculeuse et de l'ordre de 50% vis-à-vis des formes communes de TB.

## **6.3. Monitoring du patient au laboratoire**

Durant la phase initiale du traitement, l'examen des expectorations est l'élément crucial pour déterminer l'importance de la charge bacillaire, et dépister rapidement une mauvaise adhésion thérapeutique ou l'apparition d'une résistance. Pendant la phase de continuation, le monitoring des expectorations d'une tuberculose pulmonaire bacillaire permet de définir la réponse au traitement. Si l'examen direct est toujours positif à la fin du cinquième mois de traitement, il s'agit d'un échec thérapeutique selon la définition proposée par l'OMS, et ceci

nécessite un changement de catégorie thérapeutique. Il est recommandé d'effectuer un examen des expectorations en cas de tuberculose pulmonaire bacillaire:

- ✓ à la fin de la phase initiale (2<sup>e</sup> mois),
- ✓ durant la phase de continuation (fin du 5<sup>e</sup> mois).

Si à la microscopie les expectorations contiennent des bacilles à la fin du 2<sup>ème</sup> mois de traitement, la phase initiale est prolongée d'un mois et les examens des expectorations répétés au 3<sup>ème</sup> mois. Si la culture est positive au 2<sup>e</sup> mois, il est recommandé de prolonger le traitement de 3 mois (Ellard *et al.*, 1993).

#### 6.4. Résultats du traitement

L'OMS, l'Union Internationale contre la Tuberculose et le groupe de consensus européen recommandent d'évaluer le résultat du traitement d'une tuberculose, au moins en ce qui concerne les formes pulmonaires bacillaires, selon 6 catégories mutuellement exclusives (Veen *et al.*, 1998). Ces catégories sont basées sur le résultat bactériologique de fin de traitement et sont rapportées dans le **tableau 2**. Le taux de guérison préconisé par l'OMS est de 85%. Les nouvelles recommandations européennes attendent un taux de succès (guérison et traitement complet) de 95% dans les pays à faible incidence (Broekmans *et al.*, 2002).

**Tableau 2** : Résultats du traitement de la tuberculose pulmonaire bacillaire

Guérison	Patient avec examen direct et culture négatifs à deux reprises avant la fin du traitement
Traitement accompli	Traitement terminé sans preuve bactériologique
Echec de traitement	Patient qui reste bacillaire ou redevient bacillaire au 5 <sup>ème</sup> mois de traitement
Décès	Patient qui décède pendant le traitement (toute cause)
Traitement interrompu	Patient dont le traitement est interrompu pendant 2 mois ou plus avant la fin prévue ou non terminée 9 mois après le début
Transfert	Résultat inconnu ou transfert dans un autre centre

Sources: (WHO, 1997 ; Migliori *et al.*, 1999 ; Broekmans *et al.*, 2002)

## **7. TUBERCULOSE RESISTANTE**

### **7.1. Tuberculose résistante et multirésistante**

Lorsque la résistance est limitée à l'isoniazide, la poursuite pendant 6 mois d'une trithérapie (REZ) avec, éventuellement, le maintien de l'isoniazide permet d'obtenir les mêmes taux de guérison qu'en l'absence de résistance. La tuberculose multirésistante est définie comme une résistance simultanée à l'isoniazide et à la rifampicine. Sa mortalité est élevée et elle nécessite un traitement de 18 mois, voire davantage, avec une association d'antibiotiques qui doit être déterminée au cas par cas par un spécialiste, sur la base de l'antibiogramme. Lorsqu'un patient est suspect de tuberculose multirésistante c'est-à-dire au moins à H et R (anamnèse de traitements répétés et/ou erratiques, provenance de zones à haut risque), une association empirique de 6 antibiotiques: H + R + E + Z + un aminoglycoside + une fluoroquinolone doit être débutée en attendant le résultat des antibiogrammes (**Iseman 1993 ; Pablos-Mendez 1998; U.S 1992**).

### **7.2. Tuberculose ultra résistante**

La TB peut d'habitude être traitée par une association de quatre médicaments anti-TB standard ou de première ligne. Si ces médicaments sont mal utilisés ou mal administrés, la TB multirésistante (Tuberculose - MR) peut se développer. XDR-TB est l'abréviation anglaise pour la tuberculose ultra-résistante (Tuberculose - UR). La Tuberculose - UR est une TB qui est résistante à n'importe quel fluoroquinolone (lévofloxacine, moxifloxacine et ofloxacine) et au moins un des trois médicaments injectables de deuxième ligne (capréomycine, kanamycine et l'amikacine), en plus de la Tuberculose - MR. Cette définition de Tuberculose - UR a été agréée par le Groupe De Travail mondial de l'OMS sur la Tuberculose - UR en octobre 2006. La XDR-TB est plus longue à traiter avec les médicaments de deuxième ligne, qui sont plus chers et ont plus d'effets secondaires. Elle peut se développer quand ces médicaments de deuxième ligne sont mal utilisés ou mal administrés et deviennent donc aussi inefficaces. Parce que la Tuberculose - UR est résistante aux médicaments de première ligne et de deuxième ligne, les options de traitement sont sérieusement limitées. Il est donc essentiel que la lutte antituberculeuse soit prise en charge convenablement (**OMS, 2006**).

## **8. TUBERCULOSE ET VIH**

On estime qu'un tiers des 30 millions de personnes vivant avec le VIH de par le monde sont co-infectées par la tuberculose. Les personnes séropositives courent jusqu'à 50 fois plus le risque de contracter la tuberculose durant une année donnée que les personnes séronégatives.

En outre, sans l'administration d'un traitement approprié, environ 90 % des personnes infectées par le VIH décèdent dans les mois qui suivent la transmission de la tuberculose. Il semble que chez les patients porteurs du VIH et atteints d'une tuberculose non résistante, le prolongement de la durée du traitement n'a aucun impact sur le taux de succès thérapeutique ni sur le taux de rechute. Ces patients seront donc traités de façon standardisée (U.S, 1998). Si la réponse thérapeutique est lente ou suboptimale, le traitement sera prolongé au cas par cas (Small *et al.*, 2001). Le problème principal du traitement antituberculeux chez les patients à VIH positif est celui de l'interférence avec une éventuelle trithérapie antivirale. La rifampicine est un inducteur du cytochrome P450, ce qui accélère l'inactivation des médicaments antirétroviraux inhibiteurs des protéases. Inversement, les inhibiteurs des protéases inhibent le cytochrome P450, bloquant ainsi le métabolisme de la rifampicine et augmentant sa toxicité (American Thoracic Society 2003 ; U.S 1998). Par ailleurs, même si les malades co-infectés par le VIH répondent bien à un traitement antituberculeux correctement suivi, des études africaines récentes montrent que le taux de décès est 5 à 14 fois plus élevé au cours de ces traitements chez les malades séropositifs par rapport aux malades séronégatifs pour le VIH (Bercion, *et al.*, 2000). Les malades VIH positifs abandonnent trois fois plus souvent leur traitement antituberculeux que les malades VIH négatifs. Les raisons en sont multiples, au premier rang desquelles les difficultés économiques engendrées par les besoins de soins, mais aussi les réactions adverses aux traitements antituberculeux plus fréquentes et plus sévères chez les malades sidéens.

## 9. Tuberculose au Burkina Faso

Un programme national de lutte contre la tuberculose (PNLAT) a été mis en place en mars 1995. De façon générale, il s'est attelé à réduire la morbidité et la mortalité liées à la tuberculose. De 2005 à 2009, il s'était fixé comme objectifs spécifiques :

- ✓ d'augmenter le taux de détection des nouveaux cas de tuberculose pulmonaire contagieuse en passant de 18% à 70% en cinq ans par une décentralisation des activités et un renforcement du réseau de laboratoires ;
- ✓ d'accroître le taux de succès du traitement en passant de 65 % à 85 % en cinq par ans en améliorant la qualité de la prise en charge des patients ;
- ✓ d'assurer la prise en charge de la co-infection TB/VIH par la prise en compte de l'infection VIH chez les tuberculeux ;
- ✓ de veiller également à une meilleure détection de la tuberculose chez les personnes dépistées VIH positif ;

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

Assurer une meilleure intégration des activités en lice contre la tuberculose dans le cadre de la politique nationale de développement sanitaire par un renforcement des capacités institutionnelles du système de santé.

La **figure 9** réalisée à partir des données de l’OMS, montre l’évolution de la TB, toutes formes de 1980 à 2007 et la forme pulmonaire à microscopie positive de 1994 à 2007 (**WHO, 2009**). Bien que des efforts soient déployés par les autorités sanitaires, la TB demeure un problème de santé publique au Burkina Faso. Elle a surtout pour cibles les adultes jeunes de 25 à 44 ans. L’association TB/VIH est fréquente ; 31,6 % des patients atteints de tuberculose contagieuse étaient porteurs du VIH (**Diandé *et al.*, 2009a**).

## **CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES**

### **1. PÉRIODE ET CADRE DE L'ÉTUDE**

Entre avril 2005 et septembre 2006, 416 cas de tuberculose pulmonaire ont été inclus consécutivement dans :

- ✓ deux (02) centres spécifiques de lutte antituberculeuse, le Centre National de Lutte Antituberculeuse (CNLAT) de Ouagadougou et le Centre Régional de Lutte Antituberculeuse (CRLAT) de Bobo–Dioulasso],
- ✓ et deux (02) autres centres non spécifiques, le Centre Hospitalier Régional (CHR) de Dori et le Centre Médical avec Antenne chirurgicale (CMA) de Gorom-Gorom.

Les milieux d'isolements et d'antibiogrammes ont été préparés au laboratoire de mycobactéries du Centre Muraz de Bobo–Dioulasso et au laboratoire de référence régionale de Cotonou. Les cultures et les tests de sensibilité ont été réalisés au Laboratoire de mycobactéries du CNLAT. Ce laboratoire soutient les activités du Programme National Tuberculose (PNT). L'identification plus poussée de certains isolats de mycobactéries et le contrôle externe de qualité des tests de sensibilité ont été effectués au laboratoire du Centre National de Référence des Mycobactéries de Borstel en Allemagne (National Reference Center for Mycobacteria, Parkallee Borstel in Germany).

### **2. POPULATION DE L'ETUDE**

L'étude a concerné les malades anciens ou nouveaux cas développant une tuberculose pulmonaire à microscopie positive (TPM+).

- ✓ Les nouveaux cas étaient constitués de patients qui n'avaient jamais été traités avec des médicaments antituberculeux ou qui l'avaient été pendant moins d'un (01) mois.

Les anciens cas étaient constitués de malades TPM+ qui avaient pris au moins un mois de traitement antituberculeux. Ces malades comprenaient :

- ✓ des cas d'échecs, c'est-à-dire des malades déjà sous traitement, dont l'examen microscopique de contrôle des crachats au 5<sup>ème</sup> ou au 7/8<sup>ème</sup> mois de traitement est

positif,

- ✓ des cas chroniques définis par un échec après deux cures de chimiothérapie antituberculeuse,
- ✓ des cas de rechutes qui étaient des malades traités antérieurement pour tuberculose, déclarés «guéris» ou «traitement terminé» et qui présentaient à nouveau une tuberculose évolutive pulmonaire confirmée par l'examen microscopique directe des frottis,
- ✓ des cas de reprises de traitement constitués de malades qui avaient été traités pendant au moins un (01) mois, qui ont interrompu leur traitement pendant plus de 2 mois consécutifs et qui présentent des frottis positifs lorsqu'ils ont été retrouvés.

## **2.1. Critères d'inclusion**

Les malades inclus étaient des cas de tuberculose pulmonaire nouveaux ou anciens, avec au moins une microscopie de crachat positive, ayant été confirmés tuberculeux par la culture (isolats du complexe *tuberculosis* identifiés) et dont le profil de sensibilité du bacille tuberculeux aux médicaments antituberculeux a pu être établi.

## **2.2. Critères de non inclusion**

Les patients ont été enrôlés consécutivement dans chaque centre. N'ont pas été inclus dans l'étude :

- ✓ les patients en traitement antituberculeux de 2ème et 3ème mois,
- ✓ les malades infectés par les mycobactéries atypiques,
- ✓ les patients bacillaires au profil bactériologique inconnu,
- ✓ les patients chez lesquels l'étude de la sensibilité aux antibiotiques n'a pu être établie,
- ✓ les malades dont l'historique du traitement antituberculeux n'a pas permis de les classer en « jamais traités » ou « déjà traités ».

## **3. SUPPORT D'ENREGISTREMENT ET VARIABLES MESUREES**

Les malades ont été interviewés à l'aide d'un questionnaire structuré qui a permis de recueillir des informations démographiques et l'histoire de la maladie : l'existence ou non d'antécédents de traitement antituberculeux, traitement éventuel de longue durée avec ou sans injection à la streptomycine, reconnaissance des antibiotiques antituberculeux, antécédents de radiographies pulmonaires et d'exams de crachats. D'autres variables ont été mesurées: antécédents familiaux de tuberculose, recours à la pharmacopée traditionnelle, consommation régulière d'alcool, séjour de longue durée hors du Burkina Faso (Côte-d'Ivoire), maladies

concomitantes et données anthropométriques (**annexe1**).

#### **4. CONSIDERATION ETHIQUE**

L'objectif de l'étude a été expliqué à chaque participant. Tout malade dépisté BAAR+ a reçu un conseil avant la mise sous traitement gratuit. L'un des objectifs de ce conseil était de fournir au malade les informations nécessaires pour éviter de propager les bacilles dans la communauté et les informations pour guérir de la maladie. La sérologie VIH a été proposée à tout tuberculeux avec pour objectif de le mettre en cas de besoin dans le circuit de la prise en charge intégrée des tuberculeux VIH+ : conseils, traitements gratuits des infections opportunistes, prescription des antirétroviraux, don alimentaire. Par ailleurs, il est rassuré que ses résultats sont gardés confidentiels et sont gérés par le responsable des soins. C'est après consentement libre et éclairé, ainsi qu'après avoir répondu (même partiellement) au questionnaire que les malades éligibles ont été inclus.

#### **5. ETUDE BACTERIOLOGIQUE**

##### **5.1. Bacilloscopie**

Seuls les prélèvements d'origines pulmonaires ont été pris en compte, 99% étaient des crachats.

La méthode de Ziehl-Neelsen à chaud a été utilisée dans chaque centre de diagnostic. Le frottis d'expectoration sur la lame est fixé, recouvert de fuchsine phéniquée, chauffé jusqu'à émission de vapeur, rincé à l'eau courante après 5 minutes (mn), puis décoloré avec un mélange acide-alcool pendant 3 à 5 secondes avant d'être coloré au bleu de méthylène pendant 1 mn, rincé de nouveau à l'eau puis observé au microscope optique. Les résultats ont été quantifiés.

##### **5.2. Culture des échantillons**

Pour chaque patient, un échantillon de crachat positif pour les bacilles acido-alcool résistants (BAAR) a été traité et cultivé au laboratoire des mycobactéries du CNLAT.

###### ***5.2.1. Décontamination à la soude : méthode de Petroff avec centrifugation***

Les expectorations ont été décontaminées par la soude selon la méthode de Petroff modifiée. Les crachats ont été placés dans des tubes à centrifuger fermant hermétiquement. Suivant leur viscosité, ils ont été mélangés avec deux à quatre fois leur volume de solution stérile de NaOH 4%. Après homogénéisation et agitation vigoureuse, les tubes ont été portés à l'étuve à 37°C pendant 30 mn. La décontamination est suivie de centrifugation à 3000 tours pendant 15

minutes. Le surnageant a été décanté avant de rajouter 4 mL d'eau distillée au culot qui est remis en suspension puis centrifugé à nouveau. Presque tout le surnageant était décanté avant l'ensemencement du culot remis en suspension. Les seuils limites de cultures contaminées ont été de 2 à 5%.

### **5.2.2. Ensemencement et suivi des pousses bactériennes**

Pour chaque échantillon, trois milieux ont été ensemencés :

- ✓ deux milieux de Löwenstein-Jensen (LJ) supplémenté de 0,75% de glycérine,
- ✓ un LJ supplémenté de pyruvate (0,6%) (LJ+ pyruvate),
- ✓ un LJ additionné de l'hydrazide thiophène-2- carboxylique (TCH) 5 mg/L (LJ + TCH).

Chaque milieu a été ensemencé par inondation à raison de 4 gouttes de la suspension précédemment préparée. Les tubes ont été placés à l'étuve à 37 °C en position horizontale, le bouchon n'étant pas vissé à fond de manière à laisser évaporer l'excédent de liquide. Après 2 à 3 jours, ils ont été fermés hermétiquement puis observés une fois par semaine. Les cultures ont été déclarées positives dès l'apparition de colonies de formes caractéristique et constituées de BAAR au Ziehl-Neelsen et négatives après un temps d'incubation de huit (8) semaines.

### **5.2.3. Identification des mycobactéries**

L'identification des isolats a été réalisée selon :

- ✓ le délai de croissance bactérienne,
- ✓ l'aspect des colonies : lisses ou rugueuses, pigmentées ou non, grosses ou petites,
- ✓ la sensibilité au TCH 5 mg/L,
- ✓ la réponse à différents tests biochimiques : les cultures âgées de 2 semaines ont été testées pour leur activité catalasique thermolabile (20 mn à 70°C) et lorsque ce test était positif, la culture a été classifiée comme une mycobactérie non tuberculeuse et les deux autres tests n'ont pas été effectués pour ces dernières. Les cultures catalase négative ont été incubées 1 à 2 semaines encore, avant de les tester pour la réduction des nitrates (test de Virtanen) et l'accumulation de l'acide nicotinique. Ces deux tests sont positifs pour *M. tuberculosis* et négatifs pour *M. bovis*.

### **5.2.4. Etude de la sensibilité aux antituberculeux**

Le test de sensibilité aux antibiotiques a été réalisé selon la méthode des proportions (**Canetti et al., 1963**). Il s'agit d'une méthode phénotypique qui a permis d'évaluer le pourcentage de mutants résistants de la souche isolée.

## ✓ *Milieux*

Pour les tests de sensibilité, les antibiotiques (H, 2µg/mL ; R, 40µg/mL ; E, 2µg/mL S, 4µg/mL) en solution ont été inoculés dans les milieux de Löwenstein-Jensen avant coagulation.

### • *Préparation de la suspension mère de l'inoculum*

Dans des fioles stériles contenant 20 billes de verre on a introduit le maximum de colonies, ajouté 2 mL d'eau distillée stérile. Le mélange a été agité au vortex pour dissocier les amas de bactéries et obtenir une suspension homogène. Cette suspension bacillaire a été prélevée et placée dans un tube avec bouchon à vis stérile. Son opacité a été ajustée à 1mg/mL par comparaison à une suspension de BCG standardisée ou une turbidité de 1 sur l'échelle de Mac Farland. Cette suspension a servi de solution mère.

### • *Préparation des dilutions*

A partir de la suspension mère, à l'aide d'une pipette calibrée stérile (1mL ou 2mL), on a préparé dans de l'eau distillée stérile, différentes dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$ . Seules les dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-5}$  ont été utilisées.

### • *Préparation des portoirs*

Les portoirs des tubes ont été préparés comme suit :

-dilution  $10^{-1}$  : 2 tubes témoins,

-dilution  $10^{-3}$  : 2 tubes témoins et 1 tube de chaque dilution d'antibiotique,

-dilution  $10^{-5}$  : 2 tubes témoins et 1 tube de chaque dilution d'antibiotique.

### • *Ensemencement*

Chaque tube de milieu a été inoculé avec 0,2 mL de la suspension appropriée. Les tubes ont été incubés à l'étuve bactériologique pendant 3 à 4 jours pour laisser évaporer l'excès de liquide puis vissés à fond et avant de poursuivre l'incubation.

### • *Lecture et interprétation*

La lecture a été faite aux 7<sup>ème</sup>, 28<sup>ème</sup> et 42<sup>ème</sup> jours. Les colonies ont été soigneusement dénombrées sur les tubes avec antibiotiques et sur les milieux témoins (nombre de bacilles viables). On a déterminé la proportion de bacilles résistants existant dans la souche étudiée à une concentration donnée par comparaison du nombre de bactéries viables qui se sont développées à celui obtenu sur les tubes contrôle. Une souche a été considérée sensible à l'un des antibiotiques (H, R, S, E) s'il y avait absence totale de croissance ou  $\leq 1\%$  de bacilles. Dans le cas contraire, elle a été déclarée résistante.

## 6. SEROLOGIE VIH

Le test de dépistage de l'infection par le VIH a été proposé à chaque patient inclus dans l'étude. Après l'obtention de son consentement éclairé, un prélèvement de sang veineux a été effectué pour la sérologie VIH selon la stratégie II de l'OMS/ONUSIDA.

Chaque échantillon a d'abord été analysé par le test rapide mixte *Determine™ HIV-1/2 (Abbott Diagnostics)*. Lorsque ce test a été négatif, le patient a été classé VIH-négatif. Un second test rapide, mais discriminant, *ImmunoComb II BisSpot HIV 1 & 2 (PBS Organics)* a été réalisé sur chaque échantillon positif au 1<sup>er</sup> test pour préciser le profil sérologique VIH (VIH-1, VIH-2, VIH-1+2) du patient séropositif. Le résultat du test sérologique a été considéré « indéterminé » lorsqu'il y avait discordance entre le 1<sup>er</sup> test (positif) et le second test (négatif) : des analyses plus poussées par le test ELISA Vironostika HIV UNIFORM II Plus O (BioMérieux) et par western blot *HIV Blot 2.2 (Genelabs)* ont été effectuées selon les recommandations de l'ONUSIDA-OMS, (1997) pour déterminer le profil sérologique VIH (VIH-1, VIH-2, VIH-1+2 ou Indéterminé) du patient.

## 7. EVALUATION DE L'ÉTAT NUTRITIONNEL

Le profil de l'état nutritionnel chez les adultes nouveaux cas a été déterminé par la mesure de l'Index de Masse Corporelle (IMC) ou index de Quételet. Le patient a été pesé le matin à jeun et sa taille mesurée. Chez l'adulte,  $IMC = P/T^2$  [P pour le poids corporel en kilogramme (kg) et T pour la taille en mètre (m)]. Le classement des grades de l'état nutritionnel a été établi comme suit: dénutrition profonde si  $IMC < 16 \text{ kg/m}^2$ , dénutrition sévère i.e.  $16 \leq IMC \leq 16,9$  et dénutrition modérée si  $17 \leq IMC \leq 18,4$ . L'état nutritionnel était normal si  $18,5 \leq IMC \leq 24,9$ . Il y avait surpoids ou obésité quand  $IMC \geq 25$  (Tverdal *et al.*, 1986 ; Niyongabo et Larouze, 1997 ; Anonyme, 2001 ; Malvy, 2001).

## 8. ANALYSES STATISTIQUES ET EXPLORATION DES FACTEURS DE RISQUE POUR UNE TB-MR

Les patients ont été répartis en deux groupes : le groupe de malades TBs-MR, c'est-à-dire résistant au moins à l'isoniazide et à la rifampicine et le groupe de malades sensibles à tous les médicaments.

La variable dichotomique (TB-MR/sensible) a été considérée comme la variable dépendante. Le sexe, l'âge, le contage, les antécédents de consommation d'alcool, les antécédents de traitement non conventionnel, long séjour à l'étranger (en Côte d'Ivoire particulièrement), le type de traitement anti-TB, la nationalité, la profession, le statut nutritionnel et le statut VIH ont été des variables prédictives ou explicatives explorées.

Les données ont été codées et analysées au moyen du logiciel SPSS 15.0. Les analyses ont été menées en trois étapes :

- ✓ premièrement, des associations significatives entre les variables explicatives et la variable dépendante ont été recherchées selon le test standard de Khi-deux ( $\chi^2$ ) (rapport de vraisemblance ou association linéaire par linéaire) ;
- ✓ ensuite, les variables avec lesquelles les associations étaient précédemment significatives ont été introduites et analysées par régression logistique univariée, seuil de signification  $P < 0,20$  ;
- ✓ enfin, dans la même logique, les variables qui sont restées significativement liées à la variable expliquée ont été réintégrées dans un modèle d'analyse de régression logistique multivariée, seuil de signification considéré  $P < 0,05$ .

# CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

## ARTICLE N°1

### 1. Article n°1 : Fréquence des mycobactéries non tuberculeuses dans les infections pulmonaires au Burkina Faso (projet)

Souba DIANDE, Lassana SANGARE, Séni KOUANDA, Issa Benoît DIMTOUMDA, Abdoulaye GUEYE, Adama MOURFOU, Issaka SAWADOGO, Francis OUEDRAGO, Bayéma NEBIE, Léon T SAWADOGO, Alfred S TRAORE

#### Abstract

**Cadre :** Centre National de Lutte Antituberculeuse de Ouagadougou, Burkina Faso.  
**Objectifs :** Déterminer la fréquence des mycobactéries non tuberculeuses (MNT) et leur distribution selon les caractéristiques épidémiologiques et cliniques des malades pulmonaires bacillifères. **Méthodes :** Les crachats des malades à bacilles acido-alcool résistants ont été

ensemencés sur milieu de Löwenstein-Jensen. Les données anamnestiques, épidémiologiques et cliniques ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire. La sérologie VIH a été réalisée après consentement éclairé. **Résultats :** La population de l'étude était composée de 539 nouveaux et 110 cas traités antérieurement. La sérologie VIH a été positive à 29% (n = 338) et la culture dans 566 (87,2%) cas. L'étude bactériologique a été poursuivie sur 532 (82%) souches chez 362 hommes et 170 femmes d'âge moyen de  $37 \pm 13$  ans, inclus dans quatre centres. Les fréquences ont été les suivantes : complexe tuberculeux, 94,7%, (*M. tuberculosis*, 91,7%, *M. africanum*, 2,5%, *M. bovis*, 0,8%) et MNT, 5,3%. Neuf (9) MNT ont été identifiées en Allemagne : 5 *M. avium*, 2 *M. intracellulare*, 1 *M. intracellulare* du sérotype 18 et 1 *M. lentiflavum*. Il n'y avait pas un lien significatif entre l'infection par les MNT et les variables étudiées (sexe, âge, types de malades, statut VIH et centre d'inclusion),  $P > 0,050$ . **Conclusion :** La connaissance de la fréquence des MNT, 5,3%, vs. 94,7% de complexe tuberculeux, présente un intérêt thérapeutique. Aucun lien statistique significatif entre MNT et les variables étudiées n'a été mis en évidence.

**Mots clés :** Infections mycobactériennes pulmonaires, Burkina Faso

## INTRODUCTION

Les infections mycobactériennes sont fréquentes dans le monde. Toutes sont assimilées à la tuberculose dans les pays à ressources limitées. Celle-ci continue de poser un problème de santé publique avec des incidences parfois élevées notamment en Europe de l'Est, en Asie du Sud-Est et en Afrique sub-saharienne (**Labie, 2007**). Son diagnostic au laboratoire dans les pays à faibles revenus ne se résume qu'à la microscopie. Cette méthode ne permet pas de différencier les mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) qui comprend *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* et *M. canettii*, des mycobactéries non tuberculeuses (MNT), longtemps considérées comme des bactéries sans importance, quoique la responsabilité de certaines d'entre elles dans le déroulement d'un nombre de processus pathologiques ait été prouvée. Leur fréquence a augmenté dans les pays industrialisés depuis l'ère du sida (**Gbery et al., 1996 ; Prendki et al., 2008**). Actuellement, on les rencontre chez des patients non infectés par le VIH (**Dixmier, 2007**) connus comme immunodéprimés ou non. Leur expression clinique est large et variée et indissociable de la tuberculose due au CMTB. Certaines espèces de MNT semblent être plus souvent retenues comme pathogènes que par le passé. *M. avium* et *intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. malmoense* sont particulièrement impliqués dans les infections pulmonaires (**Prendki et al.,**

**2008 ; Mal, 2006).** Avec la bacilloscopie, les MNT augmentent le nombre de cas de tuberculose détectés (la méthode ne faisant pas la différence entre les bacilles) ou être à l'origine de la résistance aux médicaments antituberculeux. Leur sensibilité aux antibiotiques varie en effet d'un groupe de MNT à l'autre et on manque d'études de qualité sur leur traitement (**Mal, 2006**) qui n'est pas codifié. Ceci aurait pour conséquence une baisse du taux de guérison. Le plan mondial « Halte à la Tuberculose » s'est fixé pour l'horizon 2006-2015 des objectifs destinés à atteindre et maintenir un niveau élevé de détection des cas (75%) et de guérison (85%) (**Partnership, 2006**).

Au Burkina Faso, l'incidence tuberculeuse estimée a continué d'augmenter entre 1990 (8 429 nouveaux cas toutes formes) et 2007 (33 437 nouveaux cas toutes formes), passant de 95 à 226 cas pour 100 000 habitants. Le taux de succès de traitement a évolué de 25% en 1995 à 73% en 2006 (**WHO, 2009**). Le taux de prévalence de la pathologie causée par les MNT dans les infections mycobactériennes n'étant pas documenté sous nos tropiques, leur étude microbiologique pourrait avoir une implication épidémiologique, clinique et thérapeutique. L'étude présentée ici vise à apporter des éléments d'information sur leur fréquence et distribution selon les caractéristiques des malades pulmonaires à bacilloscopie positive.

## **PATIENTS ET MÉTHODE**

### ***Cadre d'étude***

Entre avril 2005 et septembre 2006, 649 cas de tuberculose pulmonaire nouveaux et traités antérieurement, à microscopie et cultures positives, ont été inclus consécutivement dans deux centres spécifiques de lutte antituberculeuse [Centre National de Lutte Antituberculeuse (CNLAT) de Ouagadougou et le Centre Régional de Lutte Antituberculeuse (CRLAT) de Bobo-Dioulasso] et dans deux autres centres non spécifiques [Centre Hospitalier Régional (CHR) de Dori et le Centre Médical avec Antenne chirurgicale (CMA) de Gorom-Gorom]. Les milieux de culture ont été préparés au laboratoire de mycobactéries du Centre Muraz de Bobo-Dioulasso et au laboratoire de référence régionale de Cotonou. Les cultures et tests de sensibilité ont été réalisés au Laboratoire de mycobactéries du Centre National de Lutte Antituberculeuse (CNLAT) de Ouagadougou. Le contrôle de qualité externe a été effectué au laboratoire "National reference Center for Mycobacteria in Borstel" (Parkallee Borstel) en Allemagne.

### ***Considération éthique***

L'objectif de l'étude a été expliqué à chaque participant. C'est après consentement éclairé qu'il est interviewé à l'aide d'un questionnaire structuré pour recueillir des données

démographiques et l'histoire de la maladie: antécédents de traitement anti-TB, notamment une cure de longue durée avec ou sans injection (streptomycine), connaissance des médicaments antituberculeux, antécédents d'examen de crachats ou de radiographies pulmonaires.

### ***Cultures***

Un échantillon d'expectoration positif à la microscopie de chaque patient a été décontaminé avec NaOH 4%, selon la méthode de Petroff modifiée, (**Carbonelle et al., 2003**) puis centrifugés et le culotensemencé sur le milieu de Löwenstein-Jensen (LJ), sur LJ additionné de pyruvate et LJ contenant de l'hydrazide thiophène-2 - carboxylique (TCH) 5 mg / L. Ces milieux de culture ont été incubés à 37 ° C et observés aux 3<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jours pour détecter d'éventuelles contaminations et/ou la croissance rapide des mycobactéries atypiques, puis chaque semaine pour noter la vitesse de croissance et la morphologie des colonies.

Les isolats ont été identifiés par la coloration de Ziehl-Neelsen, le délai de croissance des colonies ainsi que leur morphologie, la résistance au TCH et l'activité des tests biochimiques habituels (Niacine, nitrate réductase, activité de la catalase à 22 ° C et 68 ° C) (**Helali et Vergez, 1993**).

Les données ont été codées sur Excel et analysées sur SPSS (version 15.0). Pour la comparaison des proportions, on a eu recours au test khi carré.

### ***Sérologie VIH***

Dix millilitres de sang veineux ont été recueillis chez chaque patient volontaire, consentant, pour la détection des anticorps anti-VIH selon les recommandations de l'ONUSIDA/OMS (1997). Chaque échantillon a été soumis à un premier test mixte Determine™HIV 1/2 (Inverness Medical; France). Un résultat négatif à ce test traduisait l'absence d'anticorps anti-VIH chez le patient. Lorsque ce test était positif, un second test rapide, mais discriminant, ImmunoComb®II 1&2 BiSpot (PBS Organics ; France) a été réalisé pour déterminer le(s) types de VIH infectant le patient : VIH-1, VIH-2 ou VIH-1+2. Les sérologies VIH indéterminées (1<sup>er</sup> test positif et 2<sup>ème</sup> test négatif) ont été confirmées par HIV Blot 2.2 (Genelabs, France).

### ***Les analyses statistiques***

Les données ont été enregistrées sur Excel et analysées sur SPSS 15.0. (SPSS Inc., Paris, France). Le test de Chi carré ( $\chi^2$ ) a été utilisé pour élucider le lien statistique entre les variables (sexe, âge et statut sérologique VIH) et la résistance de *M. tuberculosis* aux médicaments antituberculeux. Le seuil de signification était  $P < 0,05$ .

## RÉSULTATS

A l'aide de la microscopie des crachats, 649 malades ont été identifiés BAAR+. Parmi ces 649 patients interviewés, 566 (87,2%) cultures ont été positives et interprétables, 25 (3,9%) sont restées négatives, 36 (5,5%) ont été contaminées, 22 (3,4%) milieux ont été abîmés.

Des 566 cultures positives, l'étude bactériologique a montré 504 (89%) CMTB, 28 (5%) MNT ; 34 (6%) *Mycobacterium* n'ont pas été classifiés dans un groupe mycobactérien.

Au regard de ce qui précède, les données n'ont pas été complètes pour la suite de l'étude : les caractéristiques épidémiologiques de 117 malades (18%), bien que connues n'ont pas été présentées car il manque leur profil mycobactériologique. Le travail n'a pu être poursuivi que sur 532 mycobactéries (82%) : 504 CMTB et 28 MNT. L'espèce *M. tuberculosis* est la plus fréquemment isolée (91,7%). Elle est suivie des MNT, de *M. africanum* et de *M. bovis* respectivement 5,3%, 2,6% et 0,4%. Neuf (9) souches (5 *M. avium*, 2 *M. intracellulare*, 1 *M. intracellulare* sérotype 18 et 1 *M. lentiflavum*) des 28 MNT ont été identifiées au "**National Reference Center for Mycobacteria**" de Borstel en Allemagne. Le **Tableau 1** montre que les mycobactéries ont été isolées chez 362 hommes (68%) et 170 femmes (32%), d'âge variant de 9 à plus de 55 ans (âge moyen :  $37 \pm 13$  ans). Il y a eu au total 427 nouveaux cas (80,3%) et 105 patients (19,7%) traités antérieurement. La sérologie VIH a été déterminée chez 338 malades. Elle est revenue positive chez 98 (29%). Le sérotype-1 était le plus fréquemment rencontré, 91 (92,9%), suivi d'une faible fréquence de VIH-2, 5 (5,1%) et finalement du VIH-1+2, 2 (2%). Les patients chez qui les MNT ont été isolées n'étaient pas statistiquement différentes de ceux où le CMTB a été isolé après ajustement pour le sexe,  $P = 0,661$ , le groupe d'âge,  $P = 0,418$ , les antécédents de traitement anti-TB,  $P = 0,090$ , le statut VIH,  $P = 0,052$  et le centre de détection,  $P = 0,967$ . Toutefois, la fréquence des MNT isolées à partir des crachats dans les anciens cas était plus élevée que dans les nouveaux cas, (8,6% vs 4,4%).

## DISCUSSION

L'espèce *M. tuberculosis* est la plus fréquemment isolée (91,7%) (94,7% de CMTB) suivie des MNT (5,3%) et des deux autres du CMTB. A ce stade de l'identification des MNT, l'espèce *M. avium* est la plus fréquemment observée.

Pour comparaison, la fréquence des types d'isolats de mycobactéries varie selon les études et les régions : en 1996, 75.1% de *M. tuberculosis*, 18.4% de *M. africanum*, 6.5% de mycobactéries atypiques et 0,4% de *M. bovis* ont été isolés à Bobo-Dioulasso (**Ledru et al., 1996**). En France, 98,1% d'isolats de *M. tuberculosis* (MTB), 1,7% de *M. africanum* et 0,2% de *M. bovis* ont été documentés dans une étude (**Robert, 2000**). *M. bovis* a une part importante dans l'épidémiologie de la TB humaine à Madagascar, où 20% d'animaux tués

*étaient infectés par cette bactérie (Rakotondramarina et al., 2000).*

On constate que la répartition des MNT et du CMTB n'est pas statistiquement différente quant à leur fréquence selon le sexe, l'âge, le cas de tuberculose, le statut VIH et le centre de détection, ce qui laisse supposer que l'épidémiologie des deux groupes de mycobactéries au Burkina Faso, voire en Afrique de l'ouest, peut être semblable. L'association infections par les MNT et immunodépression a été décrite par les études européennes en nombre croissant depuis le début de l'épidémie d'infection par le VIH (Gbery et al., 1996). En ce qui concerne le présent travail, les infections dues à ces mycobactéries représentent un problème statistique d'importance différente, quoique les nombres fussent trop petits pour arriver à une signification statistique entre les patients à VIH+ (10,2%) et les sans VIH (4,6%) ( $P = 0,052$ ). Ce résultat statistique est influencé par le pourcentage plus élevé (95,4%) de CMTB chez les patients VIH-négatifs. Il semble que là où la prévalence de *M. tuberculosis* (MTB) est élevée, les MNT, ainsi que *M. bovis*, sont rarement responsables de maladies. Que ceci serait également vrai chez les patients atteints de SIDA en Afrique et en Asie. Cette situation pourrait s'expliquer par la virulence du MTB qui attaque bien avant les autres mycobactéries. Le fait que cette espèce initie l'infection pourrait probablement créer chez le malade une résistance aux autres bactéries. Par ailleurs, on observe que les cultures positives faites à partir des crachats de patients symptomatiques dans les pays où la TB pèse un poids lourd ou moyen sont essentiellement dues au MTB, alors qu'en Europe et aux Etats-Unis, ceci peut être le cas pour moins de 50% d'entre eux. Pour toutes ces raisons, on considère les BAAR observés sur un frottis lors de l'examen microscopique dans les zones à haute prévalence comme MTB, et donc la preuve de tuberculose pulmonaire avec une faible probabilité de se tromper dans le diagnostic. Ici cette probabilité est égale à la fréquence des MNT, 5,3%, taux qui, à notre avis, est élevé. Ce pourcentage est en effet important en matière de lutte contre la tuberculose car il contribue à maintenir le taux de guérison en dessous du seuil, 85%, fixé par l'OMS et à majorer le nombre de cas de tuberculose détectés par l'examen microscopique. Notre étude confirme à 8,6%, qu'il y aurait plus de MNT chez les cas de retraitement même dans les zones à haute prévalence de MTB. D'où un problème important de la prise en charge des maladies liées à ces bactéries, puisque la sensibilité aux antibiotiques varie d'un groupe à l'autre et qu'on manque d'études de qualité sur le traitement (Mal, 2006). On oppose en effet, les MNT à croissance rapide poussant en moins de 7 jours (principalement *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. chelonae*) aux MNT à croissance lente ( $> 7$  jours) parmi lesquelles on retrouve principalement *M. avium*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. malmoense*) (Mal, 2006). Leur résistance aux médicaments habituellement efficaces sur le CMTB pose des problèmes

thérapeutiques aux cliniciens. Leur thérapie n'étant pas codifiée, elles rendent improbables l'obtention d'une réponse thérapeutique efficace avec l'utilisation des drogues de première ligne. Sous traitement, elles évoluent en effet facilement vers la résistance (**Carbonelle et al., 2003**). De ce fait, le traitement des infections à MNT rend l'utilisation de ces médicaments inutile chez des malades dont la chance de guérison est incertaine, sans compter l'impact financier qui en découle. Alors, la connaissance du type d'infections mycobactériennes paraît indispensable pour le programme, mais aussi et surtout pour les cliniciens. En effet, la connaissance de la cause de la pathologie mycobactérienne peut être source d'amélioration du taux de succès au traitement dans l'étude de cohorte annuelle. De plus, elle peut constituer une aide précieuse pour le clinicien afin de mieux adapter ses prescriptions. C'est pourquoi, une étude microbiologique des souches de mycobactéries infectant les malades et la mise en place de moyens nécessaires pour le faire semblent essentielles.

Notre étude comporte des limites, notamment la collecte incomplète des données bactériologiques de 117 (18%) malades à bacilloscopie positive. Diverses raisons expliquent cela : 5,5% des cultures ont été contaminées, mais ce taux de contamination, 5,5%, est comparable au seuil limite, 5%, admis en matière de culture des mycobactéries. Les quelques cas de cultures négatives enregistrés peuvent être expliqués par le traitement des crachats paucibacillaires sur lesquels la décontamination par l'agent chimique (NaOH 4%) peut avoir été agressive. Par ailleurs, il y a la conservation non optimale des échantillons, à Gorom-Gorom en particulier, la durée du transport, et peut-être l'utilisation d'œufs de poule dont la nourriture contient des fluoroquinolones dans certains élevages modernes, comme l'ont suggéré certains auteurs (**Van Deun et al., 1993**).

## CONCLUSION

L'examen microscopique a permis de mettre en évidence des mycobactéries du complexe tuberculeux, mais également des MNT, sans les distinguer. La preuve de l'affection par la culture a montré une fréquence des MNT à 5,3% parmi les malades. Cinq cents quatre (94,7%) patients se sont donc avérés réellement tuberculeux parmi ceux qui avaient été déclarés tels sur la base de l'examen microscopique direct. D'où distinguer les MNT des CMTB et en tenir compte dans la thérapie antituberculeuse présentent un intérêt clinique et épidémiologique. Ici leur fréquence était plus élevée chez les cas traités auparavant comparés aux nouveaux cas. Par contre, il y avait pratiquement autant de malades à MNT avec sérologie VIH positive que de patients à MNT sans VIH,  $P = 0,052$ . Par ailleurs, les autres variables

(sexe, groupe d'âge et centre de détection) n'avaient pas un lien significatif avec les infections à MNT.

## REMERCIEMENTS

À « Sécuriser le futur / Fondation Bristol-Myers and Squibb » pour le financement du projet.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Carbonelle B, Dailloux M, Lebrun L, et al. **Biologie médicale. Mycobactéries, Mycobactérioses. Cahier de Formation, 43.** In Petroff S A. **Some cultural studies on the tubercle bacillus. Bull Johns Hopkins Hosp 2003 ; 272-279.**
2. Helali, EL.N., P. Vergez. 1993. Identification des mycobactéries. *Feuillets de Biologie. XXXIV*: 5-19.
3. Gbery I.P., Djeha D., Yobouet P., Aka B. et Kanga J-M., 1996. Infections cutanées à mycobactéries atypiques. *Cahier Santé, 6* : 317-322.
4. Labie D., 2007. Résistance de *Mycobacterium tuberculosis*. *Medecine/Sciences 23* : 205-9.
5. Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA (ONUSIDA) – OMS. Recommandations concernant le choix et l'utilisation des tests de mise en évidence des anticorps anti-VIH – Version révisée. *WEEKLY EPIDEMIOLOGICAL RECORD 1997; 72*: 81-88.
6. Ledru S., Cauchoix B., Yameogo M., et al., 1996. Impact of short-course therapy on tuberculosis drug resistance in South-West Burkina Faso. *Tuberc Lung Dis 77*: 429-436.
7. Mal H., 2006. Mycobactéries non tuberculeuses. *Rev Mal Respir 2006 ; 23* : 15S89-15S91
8. Partnership, S.T., 2006. The Global Plan to Stop TB, 2006-2015. Actions for life: towards a world free of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis, 10* : 240-1.
9. Prendki V., Germaud, P., Bemer P., Masseur A. and M. Hamidou, 2008. Les infections à mycobactéries non tuberculeuses.
10. Rakotondramarina D., Razafimalala E., Andrianaivo P. et Rabeson D., 2000. Aspect épidémiologique de la tuberculose dans le Moyen-Ouest malgache. *Bull Soc Exot 93*:337-339.
11. Robert J., Trystram D., Truffot-Pernot C., Cambau E., Jarlier V. et Grosset J., 2000. Vingt cinq ans de tuberculose dans un hôpital universitaire français : le point de vue de laboratoire. *In J Tuberc Lung Dis 4*: 504-512.
12. Séverine FERDINAND, Sylvie CASSADOU, Nalin RASTOGI, 2007. Transmission de la tuberculose en Guadeloupe : Etude des facteurs de risque de transmission récente et des filières de contamination et de soins. Observatoire Régional de la Santé de Guadeloupe (ORSaG), 1-6.

13. Van Deun A., Aung K.J.M., Chowdhury S., Saha S., Pankaj A., Ashraf A., *et al.*, 1993. Drug-susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* in rural area of Bangladesh and its relevance to the national treatment regimens. *Int J Tuberc Lung Dis* **3**: 143-148.

14. WHO Report 2009. Global Tuberculosis Control. WHO 2009, 314P.

Dixmier A, Meynard JL, Lalande V, Lebeau B, Chouaïd C. Les infections pulmonaires à *Mycobacterium xenopi* en dehors du VIH/SIDA : étude rétrospective sur dix cas. *Rev Mal Resp* 2007 ; DOI : 10.1019/20064220 : 1-13.

**Tableau 1** : Caractéristiques des patients selon les groupes mycobactériens

Caractéristiques des patients	MNT n <sub>1</sub> (%)	CMTB <sup>a</sup> n <sub>2</sub> (%)	Total n (%)	Valeur P
<b>Sexe</b>				0,661
Sexe Masculin	18 (5)	344 (95%)	362 (100)	
Sexe Féminin	10 (5,9)	160 (94,1)	170 (100)	
Total	28 (5,3)	504 (94,7)	532 (100)	
<b>Groupe d'âge (ans)</b>				0,418
< 15	1 (25)	3 (75)	4 (100)	
15-24	6 (7,5)	74 (92,5)	80 (100)	
25-34	7 (4,3)	155 (95,7)	162 (100)	
35-44	8 (5,3)	142 (94,7)	150 (100)	
45-54	2 (3)	65 (97)	67 (100)	

55+	4 (5,8)	65 (94,2)	69 (100)	
Total	28 (5,3)	504 (94,7)	532 (100)	
<b>Statut VIH</b>				
VIH+	10 (10,2)	88 (89,8)	98 (100)	0,052
VIH-	11 (4,6)	229 (95,4)	240 (100)	
Total	21 (6,2)	317 (93,8)	338 (100)	
<b>Antécédents traitement</b>				
Oui	9 (8,6)	96 (91,4%)	105 (100)	0,090
Non	19 (4,4)	408 (95,6)	427 (100)	
Total	28 (5,3)	504 (94,7)	532 (100)	
<b>Centre de détection</b>				
Ouagadougou	20 (5,3)	355 (94,7)	375 (100)	0,967
Bobo-Dioulasso	3 (4,3)	67 (95,7)	70 (100)	
Gorom-Gorom	3 (6,4)	44 (93,6)	47 (100)	
Dori	2 (5)	38 (95)	40 (100)	
Total	28 (5,3)	504 (94,7)	532 (100)	

<sup>a</sup>= Complexe *tuberculosis*

ARTICLE N°2

**DRUG RESISTANCE OF *MYCOBACTERIUM*  
*TUBERCULOSIS* COMPLEX AMONG NEW TUBERCULOSIS  
CASES IN BURKINA FASO**

## 2. Article n°2: Manuscript No: WAJM /08 /128 \_ REVISED

### Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex among newly diagnosed tuberculosis cases in Burkina Faso

“Résistance du complexe *Mycobacterium tuberculosis* dans les nouveaux cas de tuberculose pulmonaires au Burkina Faso”

<sup>1,2</sup>S. Diandé, <sup>3,4</sup>L. Sangaré, <sup>4</sup>S. Kouanda, <sup>1</sup>B. I. Dingtounda, <sup>2</sup>A. S. Traoré

<sup>1</sup>National Tuberculosis Centre, Ouagadougou, Burkina Faso.

<sup>2</sup>Faculty of Life and Earth Sciences, University of Ouagadougou, Burkina Faso.

<sup>3</sup>Faculty of Health Sciences, University of Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

<sup>4</sup>Bacteriology-Virology Department, CHU Yalgado Ouedraogo, Ouagadougou, Burkina Faso.

**Corresponding author:** Prof. Ag. Lassana Sangaré, Department of Bacteriology and Virology, University Hospital Centre Yalgado Ouedraogo, 03 BP 7022 Ouagadougou 03, Burkina Faso. Phone: +226 50 31 16 55/56/57; Fax: +226 50 31 18 48.

E-mail: [sangarel@hotmail.com](mailto:sangarel@hotmail.com)

**Running title:** Drug resistance in new TB cases in Ouagadougou

**Financial support:** from “*Secure The Future*”, Bristol-Myers-Squibb Foundation

**Word count:** Abstract (245); Main text (1,963)

#### RÉSUMÉ :

**Introduction:** Les données récentes sur la résistance des souches des mycobactéries aux antituberculeux sont inexistantes chez les nouveaux cas de tuberculose pulmonaire au Burkina Faso. A cet effet, cette étude contribue à les actualiser.

**Plan de l'étude :** Des souches de *Mycobacterium* ont été identifiées chez 323 patients tuberculeux nouvellement diagnostiqués entre Avril 2005 et Septembre 2006, et testées contre l'isoniazide, la rifampicine, la streptomycine et l'éthambutol, selon la méthode des proportions. Parmi ces patients, 243 ont acceptés volontairement la sérologie VIH.

**Résultats :** Les 323 patients étaient âgés de 11 à 75 ans et 221 étaient du sexe masculin contre 102 de sexe féminin, soit un *sex ratio* de 2,17. Les 323 souches isolées et identifiées comprenaient 314 *M. tuberculosis*, 8 *M. africanum* et 1 *M. bovis*. Au Total, 39 (12,4%) souches de *M. tuberculosis* étaient résistantes ; 10 (3,2%) étaient multi-drogues résistantes (MDR). Les taux de résistance étaient de 7,3% à une seule drogue, 2,9% à 2 drogues, 0,3% à 3 drogues et de 1,9% à 4 drogues, respectivement. Une souche de *M. africanum* était

résistante à toutes les drogues testées, alors que la souche de *M. bovis* était sensible aux antituberculeux testés. La sérologie VIH était positive chez 77 des 243 patients testés. Toutefois, il n'y avait pas de lien statistiquement significatif entre la résistance aux médicaments et le genre, groupe d'âge et sérologie VIH des patients.

**Conclusion:** Le taux global de résistance des *M. tuberculosis* aux quatre antituberculeux testés et le taux de multirésistance étaient élevés. Ces résultats montrent que des efforts doivent être accomplis par le Programme National contre la Tuberculose pour limiter la diffusion des mycobactéries multirésistantes dans le pays.

**Keywords:** Tuberculosis, primary resistance, MDR, Burkina Faso

**Mots clés:** Tuberculose, résistance primaire, MDR, Burkina Faso

## Summary

**Background:** In Burkina Faso, there is no recent data about the level of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains among newly diagnosed tuberculosis cases. This study updates the primary drug resistance in these patients, in Burkina Faso.

**Study design:** *Mycobacterium* strains were identified in 323 newly diagnosed tuberculosis patients between April 2005 and September 2006, and their susceptibility to isoniazid, rifampicin, streptomycin and ethambutol was determined according to the proportions method. Among these patients 243 accepted voluntarily to be tested for antibodies to HIV.

**Results:** The age range of the patients was 11 and 75 years and included 221 (68.4%) males and 102 (21.6%) females. The isolates included 314 *M. tuberculosis*, 8 *M. africanum* and 1 *M. bovis*. Thirty-nine (12.4%) of the *M. tuberculosis* strains were resistant, with 7.3% resistant to one drug, 2.9% to two drugs, 0.3% to three drugs and 1.9% to four drugs. In total 3.2% of the isolates were multidrug-resistant (MDR). One isolate of *M. africanum* was resistant to all drugs while the single strain of *M. bovis* was sensitive to all the drugs. Among the 243 patients tested for HIV 77 were positive. However, there was no relationship between drug resistance and gender, age group or HIV serostatus of the patients.

**Conclusion:** The resistance rate of *M. tuberculosis* strains to all the four drugs tested (12.4%) and the rate of MDR (3.2%) were high. These results demand an increased effort by the National Tuberculosis Program to limit the spread MDR.

## Introduction

Tuberculosis (TB) became a curable disease with the discovery of effective TB drugs. The World Health Organization (WHO) and the International Union Against Tuberculosis and

Lung Disease (IUTLD) recommend Directly Observed Therapy Short-course (DOTS) for its treatment.<sup>1</sup> Nevertheless, TB is becoming increasingly resistant to the first line drugs.<sup>2</sup> The WHO estimates that each year nearly 450,000 new cases of multidrug-resistant tuberculosis (MDR) occur world wide.<sup>3</sup> Recently, a cumulative rate of 23.5% of MDR *M. tuberculosis* was reported in 13 African countries and Afghanistan.<sup>4</sup> Such a situation has serious consequences in settings with limited access to second line drugs.<sup>5</sup> Drug resistance arises in areas with poor TB control programmes due to the improper use of drugs in the treatment of drug-susceptible TB patients by health care workers and failure to ensure that patients complete the whole course of treatment.<sup>6,7</sup>

Unfortunately, in Africa where the highest number of TB cases are found, only a few countries are able to perform culture and drug-susceptibility testing (DST) of *M. tuberculosis*, therefore necessitating periodic studies. In Burkina Faso, drug resistance in different clinical settings is not tested systematically. The last epidemiological study on DST in new cases of TB in Burkina Faso was done from April 1992 to April 1994.<sup>8</sup> More than ten years after, we undertook this study to update the data on the level of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains among newly diagnosed TB cases in Burkina Faso..We also assessed the relationship between resistance to TB drugs and the HIV serostatus among TB patients.

## **Material and methods**

### ***Setting***

Centres included in this study were the National Centre for the Fight against Tuberculosis in Ouagadougou, the Regional Hospital in Dori, the Medical Centre in Gorom-Gorom, the Regional Centre for the Fight against Tuberculosis and University Hospital Centre Sourou Sanon, these last two located in Bobo-Dioulasso. These centres are situated in the Centre, North and South-west of the country, respectively. They represent the largest urban centres for TB diagnosis and treatment and diagnose annually, about 85% of all TB patients in the country.

### ***Patients and ethical consideration***

This cross-sectional study was performed between April 2005 and September 2006. All the subjects were TB-suspected patients presenting at the centres mentioned above, and complaining of cough for more than two weeks. The objective of the study was explained to each patient. A standard questionnaire was completed for each patient, collecting demographic information and the history of the disease; such as treatment history, possible

long duration treatment with or without injection (streptomycin), recognition of the anti-tuberculosis drugs, chest radiographs and sputum microscopy done in the past. This facilitated the classification of patients into the group of newly diagnosed cases. Only the patients, who gave a written informed and voluntary consent, were identified with at least a positive microscopy and had the drug-susceptibility testing performed, were enrolled. A total of 323 new TB cases were included in the study. Patients previously treated at any centres **were excluded.**

### ***Bacteriological study***

Direct microscopy was done on patient sputum in each diagnostic centre before transferring them to our laboratory for culture. Smears were prepared and stained by hot Ziehl-Neelsen method as recommended by the IUATLD.<sup>1</sup> The sputum samples used for culture were first decontaminated by NaOH 4%, according to the Petroff method,<sup>9</sup> then inoculated onto Löwenstein-Jensen (LJ), LJ supplemented with pyruvate (LJ+Pyruvate) and LJ containing 5µg/mL hydrazide of thiophene-2-carboxylic acid (LJ+TCH) media. These media were incubated at 37°C and inspected on the 3<sup>rd</sup> and 7<sup>th</sup> days for contamination or growth of rapid growing atypical mycobacteria. The growth rate and morphology of the colonies of the isolates was also monitored weekly. A culture was declared negative if there was no growth after 10 weeks. The isolates were identified by acid-fast stain, growth rate, morphology, resistance to TCH, growth on LJ+Pyruvate and reactions to usual biochemistry tests (niacin, nitrate reductase, catalase activity at 22°C and 70°C).<sup>10</sup>

For the drug-susceptibility testing, the standardized indirect method of the proportions was used.<sup>11</sup> Three dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ) were used, starting from the initial bacillary suspension which was inoculated to the media with antibiotics and to control media without antibiotics. Four major drugs were tested at the following concentrations: 0.2µg/mL for isoniazid (H), 40µg/mL for rifampicin (R), 4µg/mL for streptomycin (S), and 2µg/mL for ethambutol (E). A strain was declared resistant if the bacterial growth with antibiotic was  $\geq 1\%$  compared to the control and sensitive if the bacterial growth with antibiotic was  $< 1\%$ . Resistance was primary if the patient was not in contact with anti-tuberculosis drugs or was for a period of less than one month.

The *M. Tuberculosis* H37 ATCC 27294 strain was used for quality control in DST. Proficiency testing for culture and identification were done in collaboration with the National Reference Center for Mycobacteria in Borstel (Parkallee Borstel, Germany): 10 strains of *M. Tuberculosis* Complex and 10 atypical mycobacteria strains were used for this control).

### ***HIV testing***

A blood sample was collected from patients for HIV testing after voluntary counselling and obtaining their consent, according to the national standard recommended by the Ministry of Health. Two rapid tests were performed according to the UNAIDS/WHO recommendations:<sup>12</sup> the blood sample was first tested using the Determine™ HIV-1/2 (Abbott Diagnosis). Any sample that was non-reactive on the first assay was considered HIV-negative. The positive samples to the first assay were tested with ImmunoComb®II BiSpot HIV 1/2 assay (PBS Organics) to discriminate between HIV-1, HIV-2 and dual-reactivity. The HIV-positive patients were referred to the specialized treatment services for follow-up.

### ***Statistical analysis***

Data were entered into Excel and analyzed using SPSS 15.0. Chi-square test ( $\chi^2$ ) was used to interpret the results of association between drug resistance and gender, age range and HIV status of the TB patients. The statistical significance threshold was  $P < 0.05$ .

## **Results**

### ***Characteristics of the patients***

Three hundred and twenty three new patients were enrolled; they included 221 (68.4%) male and 102 (31.6%) female, with a *sex ratio* (M/F) of 2.17. The average age was  $36.7 \pm 13.1$  years [11-75 years]; 51 (15.8%) patients were aged less than 25 years, 191 (59.1%) from 25 to 44 years and 81 (25.1%) more than 44 years. Six (1.8%) patients were foreigners.

### ***Drug resistance in Mycobacterium strains***

A strain of *Mycobacterium* was isolated and identified in each patient. The drug-susceptibility testing (DST) was run for all the 323 strains, including 314 *M. tuberculosis*, 8 *M. africanum* and 1 *M. bovis*. The primary resistance of *M. tuberculosis* strains to anti-TB drugs is shown in table 1. Among the 314 isolates of *M. tuberculosis*, 275 (87.6%) were susceptible to all drugs tested while 39 (12.4%) were drug-resistant. An overall resistance rate of 3.8% was found to isoniazid (H) alone, 3.2% to streptomycin (S) alone and 0.3% to ethambutol (E), while none was detected to rifampicin (R). The analysis revealed 3.2% of multidrug-resistant (MDR) at least to isoniazid and rifampicin and 1.9% other patterns. One strain of *M. africanum* was resistant to each drug, while no resistance was found with the *M. bovis* strain. The inclusion rate of the patients in the study was higher in Ouagadougou (28.4%) than in the three other regions. The drug-resistance rate by region is shown in table 2. Among these new TB cases, there was no significant statistical association between drug resistance and sex ( $P=0.818$ ), or drug resistance and age group ( $P=0.38$ ).

### ***HIV status of the TB patients***

Among the 314 patients, 243 (77.4%) consented for HIV testing: 77 (31.7%) of them were HIV-positive, including 68 HIV-1, 6 HIV-2 and 3 HIV-1+2 dually reactive. *M. tuberculosis* drug-resistant strains were found in 10 (13%) HIV-positive patients *versus* 17 (10.2%) in HIV-negative patients; this difference was not statistically significant in both serological groups,  $P= 0.531$  (Likelihood Ratio).

### **Discussion**

Our study showed a rate of 12.4% drug-resistant *M. tuberculosis* strains and 3.2% of MDR-TB among new cases (Table 1). The patients in this study declared that they had never been previously treated, implying that they were most likely infected with drug resistant strains. The majority of the patients (71.6%) in this study were from the city of Ouagadougou, a possible limitation to our study as this might not reflect the real drug resistance problem in Burkina Faso. Nevertheless, since 28.4% (89/314) were referred from three regions of the country (Table 2), the results presented here indicate a problem of drug resistance in general and an emerging problem of MDR-TB in particular. The MDR-TB rate in Bobo-Dioulasso, the second largest city in Burkina Faso in 1992-1994 was 1.8%.<sup>8</sup> Some of the reasons for the drug resistance observed could be that the treatment success rate in new smear positive cases has not improved ever since the NTP was initiated in 1995. Another factor to be noted was the introduction of the private health sector in the detection and treatment of TB which operates differently from the public health sector. In fact such insufficiencies constitute factors which generate and worsen the problem of drug resistance.<sup>13</sup> The *M. tuberculosis* resistance to isoniazid and streptomycin can be related to the wide use of these drugs by the NTPs in developing countries due to their availability and their moderate cost.<sup>14</sup> In Burkina Faso, streptomycin is largely used to treat many other infectious diseases.

The multi resistance rate in this study appears as an important challenge for the NTP authorities in Burkina Faso. The fact that 3.2% of TB patients developed resistance at least to H and R constitutes a major threat to the NTP. To specifically confront drug-resistant TB and save lives, NTP should immediately improve its ability to rapidly diagnose all TB cases and treating them until cured, which is the best way to prevent the development of drug resistance. Surveillance of TB drug resistance is of major importance for TB control and is an indicator for the quality of the TB treatment.<sup>15</sup>

The comparison of our results with those of other studies showed that the resistance rate to isoniazid (3.8%) was lower than the 7.2% obtained in Malawi,<sup>16</sup> but higher than the 3.1%

obtained in Ivory Coast.<sup>17</sup> The resistance rate to streptomycin (3.2%) although high, was lower than the 4.3% found in South Africa,<sup>18</sup> 11.6% in Maputo (Mozambique),<sup>19</sup> 8.5% in Madagascar<sup>20</sup> and 4.4% in Botswana. However, it was similar to the 3.1% found in Algeria.<sup>19,21</sup> The mono-resistance rate to ethambutol is 1% vs. none in South Africa<sup>18</sup> and in Maputo.<sup>19</sup> No strain of *M. tuberculosis* resistant to rifampicin alone was found: a similar result was observed in Hoogli.<sup>4</sup> The MDR rate (3.2%) was low compared to the 5.3% reported in Ivory Coast,<sup>17</sup> 8.7% in Ghana.<sup>22</sup> It was higher than the 1.1% reported in Algeria and 2.2% in Egypt.<sup>21</sup> In our study population, it was likely that the inclusion of 3 patients treated for less than one month as new cases contributed to the increase in the resistance rate to isoniazid as well as to rifampicin as proposed by others.<sup>23</sup> The global resistance of *M tuberculosis* to anti-TB drugs (12.4%) in our study was lower than the 23.5% found in Ghana.<sup>22</sup>

As Ledru et al.<sup>8</sup>, in their study in Bobo-Dioulasso, we did not find a relationship between HIV serostatus and drug resistance.

## **Conclusion**

The level of resistance in *M. tuberculosis* strains to all the four drugs tested, the resistance to any drugs (12.4%) and the rate of MDR (3.2%) were high. In the countries where the WHO recommendations are well applied in "new cases", the global resistance (or resistance to any drugs) and the MDR rates should be below 10% and 3% respectively.<sup>24</sup> Efforts must be made to limit MDR-TB spread in Burkina Faso. There is a need to prevent its further development and to find alternative drugs for the existing cases. The results showed that there was no significant statistical association between drug resistance and gender, age group and HIV serostatus in these new TB cases.

## **Acknowledgements**

Our gratitude to "Secure The Future/Bristol Myers and Squibb Foundation (BMS)" for the financial support. We thank the professionals involved in the study at the CNLAT, the CRLAT/Bobo-Dioulasso, at Centre Muraz (Bobo-Dioulasso), in Dori and Gorom-Gorom.

We thank very much Dr Denis Tebit Manga (Division of Infectious Diseases, Case Western Reserve University, Cleveland, 2109 Adelbert Road, OH 44106, USA) for accepting to review the manuscript.

## **Duality of interest**

No conflict of interest

## References

- 1 Enarson DA, Rieder HL, Arnadottir T, Trébuçq A. Managements of tuberculosis: guide for low income countries. 5<sup>th</sup> ed. 2000; Paris: IUATLD.
- 2 Zignol M, Hosseini MS, Wright A, Lambregts-van Weezenbeek C, Nunn P, Watt CJ et al. Global incidence of multidrug-resistant tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 2006; 194: 479- 485.
- 3 World Health Organisation. Tuberculosis facts. WHO/HTM/STB/factsheet/2006.1. WHO, 2006.
- 4 Shah NS, Wright A, G-H Bai, Barrera L, Boulahbal F, Martin-Casabona N et al. Worldwide Emergence of Extensively Drug-resistant Tuberculosis. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13: 380-387.
- 5 Kenyon TA, Mawasekaga MJ, Huebner R, Rumisha D, Binkin N, Maganu E. Low levels of drug resistance amidst rapidly increasing tuberculosis and human immunodeficiency virus co-epidemics in Botswana. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 1999; 3: 4-11.
- 6 **Ormerod LP.** Multidrug-resistant **tuberculosis (MDR-TB):** epidemiology, prevention and treatment. *Br. Med. Bull.* **2005**; 73-74: 17-24.
- 7 Faustini A, Hall AJ and Perucci CA. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review. *Thorax.* 2006; 61: 158–163.
- 8 Ledru S, Cauchoix B, Yameogo M, Zoubga A, Lamandé-Chiron J, Portaels F et al. Impact of short-course therapy on tuberculosis drug resistance in South-West Burkina Faso. *Tuberc. Lung Dis.* 1996; 77: 429-436.
- 9 Petroff SA. A new and rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacilli directly from the sputum and feces. *J. Exp. Med.* 1915; 21: 38-42.
- 10 El Helali N, Vergez P. Identification des mycobactéries. *Feuillets de Biologie* 1993; XXXIV: 5-19.
- 11 Canetti G, Rist N, Grosset J. Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Rev. Tuberc. Pneumol.* 1963; 27: 217-272.
- 12 UNAIDS/WHO. Revised recommendations for the selection and use of HIV antibody tests. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 1997; **72**:81-87.
- 13 Wood AJJ. Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *N. Engl. J. Med.* 1993; 329: 784-791.
- 14 Bercion R, Kuaban C. Initial resistance to antituberculosis drug in Yaounde,

- Cameroun, in 1995. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 1997; 1: 110-114.
- 15 **Khuê PM, Truffot-Pernot C, Texier-Maugein J, Jarlier V and Robert J on behalf of the AZAY-Mycobacteria Study Group.** A 10-year prospective surveillance of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance in France 1995–2004. *Eur. Respir. J.* 2007; 30: 937-944
- 16 Warndorff DK, Yates M, Ngwira B, Chagaluka S, Jenkins PA, Drobniewski F et al. Trends in antituberculosis drug resistance in Karonga, Malawi, 1986-1998. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 2000; 4: 752-757.
- 17 Dosso M, Bonard D, Msellati P, Bamba A, Douhourou C, Vincent V et al. & pour le groupe d'Etude Ivoirien sur la Résistance de la Tuberculose. Primary resistance to antituberculosis drugs: a national survey conducted in Côte d'Ivoire. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 1999; 3: 805-809.
- 18 Weyer K, Brand J, Lancaster J, van der Walt M, Levin J. Determinants of multidrug-resistant tuberculosis in South Africa: results from a national survey. *S. Afr. Med. J.* 2007; 97: 1120-1128.
- 19 Nunes EA, De Capitani EM, Coelho E, Joaquim OA, Figueiredo IRO, Cossa AM et al. Patterns of anti-tuberculosis drug resistance among HIV-infected patients in Maputo, Mozambique, 2000-2003. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 2005; 9: 494-500.
- 20 Ratsirahonana O, Rasolofo Razanamparany V, Rasolonalona T, Rakotonirina V, Rakotoarisaonina A, Ralamboson M et al. Résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux antituberculeux à Antananarivo en 2000. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar* 2002; 68: 44-47.
- 21 WHO/IUATLD. Anti-tuberculosis drug resistance in the world: third global report/the WHO/IUATLD 1999-2002; Global Project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance 2004; 1-129.
- 22 Owusu-Dabo E, Adjei O, Meyer CG, Horstmann RD, Enimil A, Kruppa TF et al. *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance, Ghana. *Emerg. Inf. Dis.* 2006; 12: 170-172.
- 23 Van Deun A, Aung KJM, Chowdhury S, Saha S, Pankaj A, Ashraf A et al. Drug-susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* in rural area of Bangladesh and its relevance to the national treatment regimens. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 1999; 3: 143-148.
- 24 Boulahbal F, and Chaulet P. La tuberculose en Afrique, épidémiologie et mesure de lutte. *Med. Trop.* 2004; 64: 224-228.

**Table 1:** Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* (N=314) among new tuberculosis cases

<b>Drugs</b>	<b>Number</b>	<b>%</b>
Susceptible to all drugs	275	87.6
Global primary resistance	39	12.4
<b>Any drug</b>	<b>39</b>	<b>12.4</b>
H	27	8.6
R	11	3.5
E	11	3.5
S	19	6.1
<b>Monoresistance</b>	<b>23</b>	<b>7.3</b>
H	12	3.8
R	0	-
E	1	0.3
S	10	3.2
<b>Multiresistance</b>	<b>10</b>	<b>3.2</b>
H+R	3	1.0
H+R+E	1	0.3
H+R+S	0	-
H+R+E+S	6	1.9
<b>Other patterns</b>	<b>6</b>	<b>1.9</b>
H+E	3	1.0
H+S	2	0.6
H+E+S	0	-
R+E	0	-
R+S	1	0.3
R+E+S	0	-
E+S	0	-
<b>Number of drug resistance to:</b>		
1 drug	23	7.3
2 drugs	9	2.9
3 drugs	1	0.3
4 drugs	6	1.9

The 8 *M. africanum* and 1 *M. bovis* strains are not included in this table.

H: isoniazid; R: rifampicin; E: ethambutol; S: streptomycin.

**Table 2:** Any drug resistant in *Mycobacterium tuberculosis* strains by region

<b>Regions</b>	<b>Resistance to any drug</b>		<b>Total (%)</b>
	<b>Yes (%)</b>	<b>No (%)</b>	
Ouagadougou	29 (9.2)	196 (62.4)	225 (71.6)
Bobo-Dioulasso	3 (1.0)	39 (12.4)	42 (13.4)
Gorom-Gorom	4 (1.2)	27 (8.6)	31 (9.9)
Dori	3 (1.0)	13 (4.2)	16 (5.1)
<b>Total</b>	<b>39 (12.4)</b>	<b>275 (87.6)</b>	<b>314 (100.0)</b>

**ARTICLE N°3**

***MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ACQUIRED DRUG-RESISTANCE IN PATIENTS EXPERIENCING THERAPY FAILURE, RELAPSE OR TREATMENT ABANDONMENT IN OUAGADOUGOU, BURKINA FASO**

**3. Article n°3: *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistance in patients previously treated in Ouagadougou, Burkina Faso**

« Résistance acquise de *Mycobacterium tuberculosis* aux médicaments chez les cas d'échec, de rechute et d'abandon à Ouagadougou, Burkina Faso »

L. Sangaré<sup>1,2</sup>, S. Diandé<sup>3,4</sup>, S. Kouanda<sup>2</sup>, B.I. Dingtounda<sup>3</sup>, A. Mourfou<sup>3</sup>, F. Ouédraogo<sup>3</sup>, I.

Sawadogo<sup>3</sup>, B. Nébié<sup>3</sup>, A. Gueye<sup>3</sup>, L.T. Sawadogo<sup>4</sup>, A.S. Traoré<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>University Hospital Centre Yalgado Ouedraogo, 03 BP 7022 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

<sup>2</sup>Faculty of Health Sciences, University of Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

<sup>3</sup>Faculty of Earth and Life Sciences, University of Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

<sup>4</sup>National Centre against Tuberculosis, Ouagadougou, Burkina Faso.

**Corresponding author:**

Professor Lassana Sangaré, Département of Bacteriology and Virology, University Hospital Centre Yalgado Ouedraogo, 03 BP 7022 Ouagadougou 03, Burkina Faso. Phone: +226 50 311656/57; Fax: +226 50 311848; E-mail: [sangarel@hotmail.com](mailto:sangarel@hotmail.com).

**RÉSUMÉ**

**Introduction:** La tuberculose multirésistante aux antibiotiques devient courante en Afrique sub-Saharienne; cependant très peu de données sont disponibles au Burkina Faso. Le but de cette étude est d'évaluer la résistance acquise aux antituberculeux de première ligne par les souches de *Mycobacterium* du complexe *tuberculosis* identifiées chez les patients tuberculeux à Ouagadougou.

**Méthodes:** Cent dix patients atteints de tuberculose pulmonaire à bacilloscopies positives et en situation d'échec, d'interruption ou d'abandon de traitement ont été inclus dans l'étude. Au total, 96 souches dont 92 (95.8%) *M. tuberculosis* et 4 (4.2%) *M. africanum* ont été isolées et identifiées à partir des expectorations recueillies chez ces patients. L'étude de leur sensibilité aux antituberculeux a été réalisée selon la méthode des proportions. Les antibiotiques de première ligne qui ont été testés étaient l'isoniazide (INH), la streptomycine (STR), l'éthambutol (EMB) et la rifampicine (RIF).

**Résultats:** Le taux global de résistance aux antituberculeux était de 67,4% (60/89), dont 3,4% à un antituberculeux, 18% à deux, 10,1% à trois et 35,9 à quatre médicaments.

Les résistances à l'INH, la RIF, l'EMB et à la STR étaient de 67,4%, 51,6%, 50,6% et 44,9% respectivement. Deux souches de *M. africanum* étaient résistantes à tous les médicaments. Au total, 46 (51.6%) souches étaient multirésistantes.

**Conclusions:** Le taux de résistance acquise des *Mycobacterium* du Complexe *tuberculosis* aux antituberculeux est très élevé à Ouagadougou. Les résultats obtenus ont montré que la tuberculose multirésistante (TB-MDR) pourrait être un important problème de santé publique

au Burkina Faso.

**Keywords:** Tuberculose, resistance aux antituberculeux, Ouagadougou, Burkina Faso

## ABSTRACT

**Background:** Tuberculosis drug-resistance becomes common in sub-Saharan Africa; however, very few data are available in Burkina Faso. The aim of this study is to assess the acquired resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains identified in TB patients to four first line drugs in Ouagadougou.

**Methods:** Hundred and ten pulmonary tuberculosis patients with acid-fast bacilli-positive sputum and in situation of failure, relapse or treatment abandonment were included in the study. Ninety six strains, including 92 (95.8%) *M. tuberculosis* and 4 (4.2%) *M. africanum*, were isolated from sputum samples collected in these patients. Their drug susceptibility testing was performed using the proportion method. The first line drugs tested were isoniazid (INH), streptomycin (STR), ethambutol (EMB) and rifampicin (RIF).

**Results:** The global acquired drug-resistance rate was 67.4% (n = 60), including 3.4% to one drug, 18% to two, 10.1% to three and 35.9% to four drugs. The resistance to INH, RIF, EMB and STR were 67.4%, 51.7%, 50.6% and 44.9%, respectively. Two strains of *M. africanum* were resistant to all drugs. Forty-six (51.7%) strains were multidrug-resistant.

**Conclusions:** The level of acquired resistance of *M. tuberculosis* complex to commonly used anti-tuberculosis drugs is very high in Ouagadougou. Our results showed that multidrug-resistant tuberculosis could be a public health problem in Burkina Faso.

**Keywords:** Tuberculosis, drug resistance, Ouagadougou, Burkina Faso

## Introduction

The resurgence of tuberculosis (TB) is major concern at the global level. The World Health Organisation (WHO) estimates that 1.7 to 2 billion people are infected with *Mycobacterium tuberculosis* and that each year, 7 to 9 million of them develop tuberculosis (TB) disease of which 3 million die.<sup>1</sup> In Africa, growth remains high due mainly to the epidemic of HIV infection and the spread of multidrug-resistant (MDR) tuberculosis.<sup>1-5</sup>

The drug-susceptibility testing of *M. tuberculosis* remains a significant part of the monitoring process of the TB resistance to drugs.<sup>6</sup> Surveillance of drug-resistance, notably by periodic assessments can guide the decision-maker in defining the standardized regimens and for assessing its quality on the field. Thus, the level and trends of resistance enable appropriate adjustments to be made either at the organizational level or changing the treatment regimens

at patients' level.

In Africa, the drug-susceptibility testing of *M. tuberculosis* is rarely done. Nevertheless, some useful information has been obtained in some countries in the course of investigations conducted by WHO and the International Union against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD)<sup>7</sup> or as part of studies done locally<sup>8-12</sup>. For the specific case of Burkina Faso, one study conducted at the Centre Muraz in Bobo-Dioulasso in 1996, a year after the adoption of directly observed treatment (DOT) in the country, showed an overall prevalence of primary resistance to TB drugs of 8.6%.<sup>13</sup> Since then, no other study or evaluation has been conducted despite the fact that clinical treatment failures which suggest the existence of drug-resistant strains are recorded increasingly. Such a gap in information could complicate the implementation of any successful drug control programme.

The aim of this study was to assess the prevalence of *M. Tuberculosis* resistance to antibiotics in patients experiencing failure, relapse and treatment abandonment of treatment in order to assess the quality of treatment provided in Burkina Faso.

## **Methodology**

### ***Setting***

The study was carried out in the laboratory of the National Tuberculosis Centre (NTC) in Ouagadougou, Burkina Faso. All bacteriological examinations were run in this laboratory where new TB cases are detected and where the bacteriological response to therapy of TB patients is monitored. It strongly supports the activities of the National Tuberculosis Programme (NTP).

### ***Patients and ethical consideration***

From April 2005 to February 2006, 110 previously treated patients experiencing failures, relapses or treatment abandonment for at least one month and with acid fast bacilli (AFB)-positive sputum smears were consecutively enrolled in a cross-sectional study. The aim of the study was explained to each participant in his language of communication. After obtaining informed consent, a standard questionnaire was completed for each patient to collect demographic data and the history of the disease such as: previous anti-TB treatment, treatment of long duration with or without injection (streptomycin), recognition of the anti-TB drugs on behalf of the patient, previous pulmonary radiographies and examinations of expectorations; it was to classify the patient in the group of old cases for the acquired drug-resistance study.

### ***Bacteriological study***

### *Microscopic examination and strains isolation*

Sputum smears were prepared and stained by the Ziehl-Neelsen hot method, as recommended by IUATLD.<sup>14</sup> One AFB-positive sample from each patient was used for the culture.

The sputum samples were decontaminated with 4% NaOH, according to the Petroff method,<sup>15,16</sup> centrifuged and the sediments transferred onto Loewenstein-Jensen (LJ) media, LJ supplemented with pyruvate (LJ+Pyruvate) and LJ containing 5.000 mg/L hydrazide of the thiophene-2-carboxylic acid (TCH) (LJ+TCH). These culture media were incubated at 37°C and observed on days 3 and 7 to detect contaminations and/or fast growth of atypical mycobacteria, then every week to note the growth rate and the morphology of the colonies.

### *Identification and drug-susceptibility test*

Isolates were identified by acid fast staining, colony growth time, resistance to TCH, culture abundance in LJ+Pyruvate media and activity to usual biochemistry assays (niacin, nitrate reductase, catalase activity at 22°C and 70°C).<sup>17</sup>

The antibiotics were tested according to the method of Canetti, Rist and Grosset.<sup>18</sup> The concentrations used were 0.2µg/mL for isoniazid (INH), 40µg/mL for rifampicin (RIF), 4µg/mL for streptomycin (STR), and 2µg/mL for ethambutol (EMB). A strain was declared resistant to an antibiotic if the bacterial growth on medium with the drug was ≥1% compared to the control or sensitive when their growth was <1%. Drug-resistance was acquired if the patient was previously treated with the antituberculosis drugs tested *in vitro*.

A *M. Tuberculosis* H37 ATCC 27294 strain was used for quality control in DST. Proficiency testing for culture and identification were done in collaboration with the National reference Center for Mycobacteria in Borstel (Parkallee Borstel Germany): 10 strains of *M. tuberculosis* Complex and 10 of atypical mycobacteria strains were used for this control.

### *Statistical analysis*

The data were recorded and analyzed on SPSS version 12.0. Chi-square test ( $\chi^2$ ), linear- by-linear association was used to interpret the results. The significance threshold was  $P < 0.05$ .

## **Results**

### *Demographic characteristics of patients*

One hundred and ten previously treated patients were included in the study, with 73 (66.5%) cases of failure, 25 (22.7%) relapses and 12 (10.9%) case of treatment abandons at least for 1 month. The failures occurred at the fifth month in 24 (21.8%) patients, at 7/8th month in 7 (7.3%) patients, while 41(37.3%) were chronics. The age and gender distributions are

presented in figure 1. The sex ratio was 2.4, with 74 (67.3%) men and 36 (32.7%) women. The age range was 14 to 76 years old, with a mean of  $38.3 \pm 11.4$  years old.

### ***Mycobacterium* resistance to the drugs tested**

All the 110 patients were AFB-positive, while the culture was positive for 105 (95.5%), negative for 1 (0.9%) and contaminated for 4 (3.6%) patients. Among the 105 strains identified, there were 92 (87.6%) *M. tuberculosis*, 9 (8.6%) atypical mycobacteria and 4 (3.8%) *M. africanum* isolates, respectively. However, the identification could not be completed for the 9 atypical isolates (7 from failures and 2 from relapses).

Three isolates of *M. tuberculosis* were excluded because of insufficient number of colonies. Drug-susceptibility testing to INH, RIF, EMB and STR was performed with 89 *M. tuberculosis* and 4 *M. africanum* strains. The results showed that 29 (32.6%) *M. tuberculosis* strains were sensitive to all antibiotics tested and 60 (67.4%) were resistant. Acquired monodrug-resistance was 67.4% to INH, 51.6% to RIF, 44.9% to STR and 50.5% to EMB. However, 32 (35.9%) strains were MDR for INH and RIF. The other resistance details are presented in **Table 1**. Two of the 4 *M. africanum* isolates were resistant to all antibiotics tested.

Acquired resistance of *M. tuberculosis* to INH, RIF, EMB and STR separately or combined was higher in chronic cases than among cases of relapse and treatment abandonment (Table 2). Chronic TB patients were more resistant to RIF and STR than those with failures at the 5<sup>th</sup> and 7/8th months ( $P= 0.031$  and  $0.042$  respectively) and also more resistant to any drug than the cases with relapse and abandonment of less than one month ( $P= 0.0001$ ).

### **Discussion**

In this study and generally in sub-Saharan Africa, TB is more prevalent in patients aged 20 to 45 years old, with a clear male prevalence. In fact, young adults, and especially male adults, are the most economically productive and are committed in various activities from where the transmission of the tuberculosis bacillus can occur easily: <sup>19</sup> these reasons could explain also why there is more failure and relapse in this group.

**The prevalence of acquired drug-resistance of *M. tuberculosis* in this study was 67.4%.** Lower rates have been described in Nepal, Italy, Estonia,<sup>14</sup> in Mexico<sup>20</sup> and in Prague<sup>21</sup> (40.9%, 47.2%, 58.1%, 65% and 52% respectively). Higher rates were found in Egypt (68.2%), Russian Federation (73.3%), Kazakhstan (82.1%),<sup>20</sup> Ivory Coast (79.0%),<sup>19</sup> and Japan (80.0%).<sup>22</sup>

We obtained a larger multi-resistance rate in the chronic cases (failure after two courses of treatment) than in cases who resumed treatment after failure (5th or 7/8th month) and the relapses. It seems that the proportion of patients with resistant bacilli becomes dominant after failure of two treatment courses. It is probable that the provision of a second course of treatment as recommended by WHO will fail in the treatment of these chronic cases because when a strain is resistant to both INH and RIF, the chance of successful therapy is low.<sup>23</sup>

The chronic cases could be detected if the culture and drug susceptibility tests were performed after the failure of the first course of treatment. Unfortunately, *in vitro*, surveillance of *M. tuberculosis* resistance to drugs is not effective in the country, despite the current need. Today, chronic patients constitute a true problem in the control of TB. They are contagious for a prolonged period and are sources of transmission in the community. Their treatment has been long and costly with mediocre results. Presently, a further study is ongoing to detect XDR tuberculosis in these strains.

The MDR observed among patients in a situation of failure (particularly the chronics), relapse and abandonment of treatment may reflect the quality of care or their poor compliance. This is an important public health problem considering the high level of resistance to drug used in the country. Monitoring of drug-resistant *M. tuberculosis* should be enhanced by periodic surveys to assess trends in resistance and take corrective action when necessary.

### **Acknowledgements**

We express our gratitude to “*Secure The Future*” from BMS Foundation for the entire financial support. We thank Dr. Elvira Richter of National Reference Center for Mycobacteria (Parkallee Borstel Germany) for his comments, the health professionals at the CNLAT in Ouagadougou and the laboratory of mycobacteria of the Centre Muraz in Bobo-Dioulasso for their technical assistance.

**Conflicts of interests: None.**

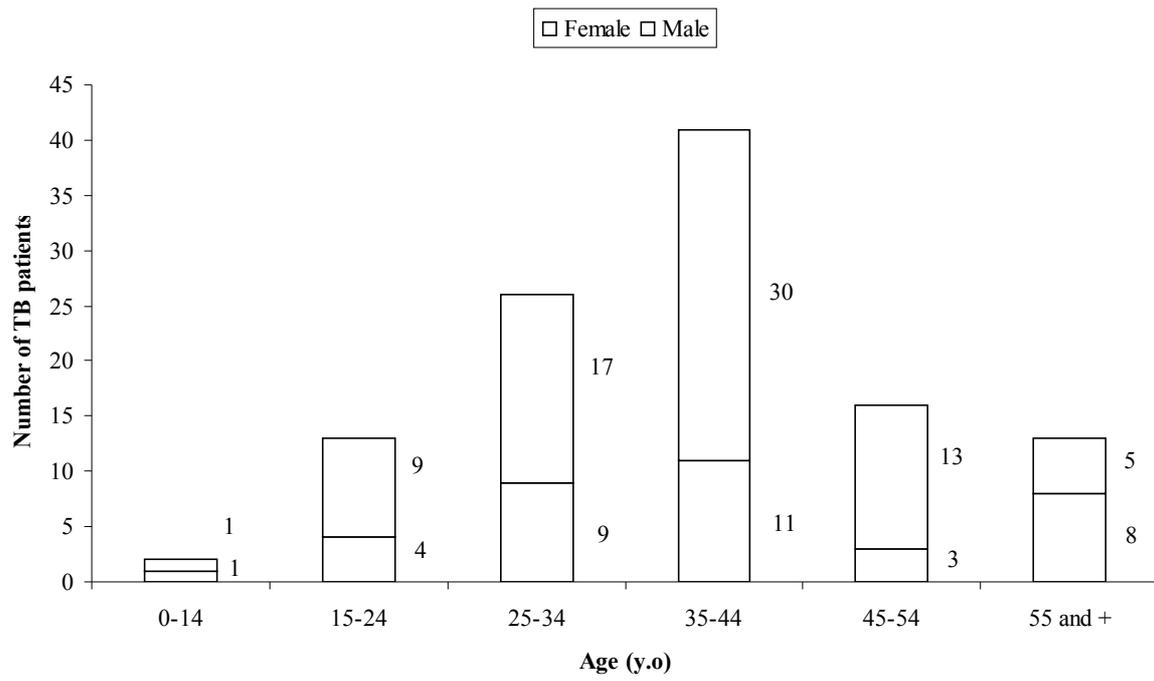
### **References**

1. Dye C. Global epidemiology of tuberculosis. *Lancet*. 2006; 367: 938-940.
2. Center for Disease Control. Primary resistance to antituberculosis drugs, United States. *MMWR*. 1983; 32: 521-523.
3. Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, et al. The emergence of drug-resistant

- tuberculosis in New York City. *N Engl J Med*. 1993; 328: 521-532.
4. Bloch AB, Cauthen GM, Onorato IM, et al. Nationwide survey of drug-resistant tuberculosis in the United States. *JAMA*. 1994; 271: 665-671.
  5. Grosset J. Fréquence et gravité actuelles de la résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux antibiotiques. *Ann Inst Pasteur*. 1993; 4:196-202.
  6. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance 1994-1997. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Geneva: WHO Tuberculosis Global Programme, 1997.
  7. **WHO/IUATLD**. Anti-tuberculosis drug resistance in the world: third global report/the WHO/IUATLD Global Project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance 1999-2002.
  8. Dosso M, Bonard D, Msellati P, et al. Primary resistance to antituberculosis drugs: a national survey conducted in Côte d'Ivoire. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1999; 3 : 805-809.
  9. Kuaban C, Bercion R, Jifon G, Cunin P, Blackett KN. Acquired anti-tuberculosis drug resistance in Yaounde, Cameroon. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000; 4: 427-432.
  10. **Warndorff DK, Yates M, Ngwira B, et al**. Trends in antituberculosis drug resistance in Karonga, Malawi, 1986-1998. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000; 4: 752-757.
  11. Demissie M, Gebeyehu M, Berhane Y. Primary resistance to antituberculosis drugs in Addis Ababa, Ethiopia. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1997;1: 64-67.
  12. Owusu-Dabo E, Adjei O, Meyer C, et al. *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance, Ghana. *Emerg Inf Dis*. 2006; 12: 170-172.
  13. Ledru S, Cauchoix B, Yameogo M, et al. Impact of short-course therapy on tuberculosis drug resistance in South-West Burkina Faso. *Tuberc Lung Dis*. 1996; 77: 429-436.
  14. **Enarson DA, Rieder HL, Arnadottir T, et al**. Managements of tuberculosis: guide for low income countries. 5th<sup>ed</sup>. Paris: WHO/IUATLD 2000.
  15. **Petroff SA**. A new and rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacilli directly from the sputum and feces. *J Exp Med*. 1915; 21: 38-42.
  16. **Keilty RA**. A final report on the cultivation of the tubercle bacillus from the sputum by the method of Petroff. *J Exp Med*. 1916; 24: 41-48.
  17. **El Helali N, Vergez P**. Identification des mycobactéries. *Feuilletts de Biologie*, 1993; XXXIV: 5-19.
  18. **Canetti G, Rist N, Grosset J**. Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux

- drogues antibacillaires par la méthode des proportions. Rev Tuberc Pneumol. 1963 ; 27: 217-272.
19. **Kouassi B, Horo K, N'Douba KA, et al.** Profil épidémiologique et microbiologique des malades tuberculeux en situation d'échec ou de rechute à Abidjan. Bull Soc Exot, 2004;97: 336-337.
  20. Srinivas V, Ramaswamy Shu-Jun D, et al. Genotypic analysis of multidrug- resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Monterrey, Mexico. J Med Microbiol. 2004; 53: 107-113.
  21. Saribas S. Resistance problems in *Mycobacterium tuberculosis*: evaluation of the resistance of 166 *M. tuberculosis* strains against four major drugs. Euro Soc Clin Microbiol. Infect Dis. 2004; Abstract N- 902:1287.
  22. Quy HTW, Lan NTN, Borgdorff MW, et al. Drug resistance among failure and relapse cases of tuberculosis: is the standard re-treatment regimen adequate? In J Tuberc Lung Dis. 2003; 7: 631-636.
  23. Senneville E. Traitement des patients porteurs de souches résistantes. Med Mal Infect. 1995; 25: 369-76.

**Figure 1:** Age and gender distribution of TB patients



**Table 1: Acquired drug-resistance of *Mycobacterium tuberculosis***

<b>Antibiotics</b>	<b>Number</b>	<b>%</b>
Total number of strains tested	89	
Total number of susceptible strains	29	32.6
<b>Resistance to any drug</b>	<b>60</b>	<b>67.4</b>
H	60	67.4
R	46	51.7
E	45	50.6
S	40	44.9
<b>Monoresistance</b>	<b>3</b>	<b>3.4</b>
H	3	3.4
R	0	0
E	0	0
S	0	0
<b>Multiresistance (MDR)</b>	<b>46</b>	<b>51.6</b>
H+R	8	9.0
H+R+E	5	5.6
H+R+S	1	1.1
H+R+E+S	32	35.9
<b>Other patterns</b>	<b>11</b>	<b>12.4</b>
H+E	5	5.6
H+S	3	3.4
H+E+S	3	3.4
R+E	0	0
R+S	0	0
R+E+S	0	0
E+S	0	0
Susceptible to all drugs	29	32.6
Number of drug resistant	60	67.4
Resistant to 1 drug	3	3.4
Resistant to 2 drugs	16	18.0
Resistant to 3 drugs	9	10.1
Resistant to 4 drugs	32	35.9

H: isoniazid; R: rifampicin; E: ethambutol; S: streptomycin

**Table 2:** H, R, E, S and HRES acquired resistance of *M tuberculosis* according to TB history in patients

	H	R	E	S	H+R+E+S
Failures on 5th month 6 (18.8)		20 (33.3)	13 (28.3)	14 (31.1)	10 (25)
Failures 7/8th month 2 (6.3)		4 (6.7)	4 (8.7)	4 (8.9)	2 (5)
Chronics (60) 23(71.9)		30 (50)		28 (60.9)	26 (57.8) 24
Relapses 1 (3.1)		4 (6.7)	1 (2.2)		1 (1.2) 2 (5)
Abandon ≥ 1 month		2 (3.3)	0	0	2 (5) 0
<b>Total</b>	<b>60 (100)</b>	<b>46 (100)</b>	<b>45 (100)</b>	<b>40 (100)</b>	<b>32 (100)</b>

H: isoniazid; R: rifampicin; E: ethambutol; S: streptomycin.

**Article N° 4**

**RISK FACTORS FOR MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS  
(MDR-TB) IN FOUR CENTERS IN BURKINA FASO, WEST  
AFRICA**

#### **4. Article n°4: Risk Factors for Multidrug-resistant Tuberculosis (MDR-TB) in Four Centers in Burkina Faso, West Africa**

##### **RÉSUMÉ**

##### **"FACTEURS DE RISQUE POUR UNE TUBERCULOSE MULTIRÉSISTANTE (TB-MR) AUX MÉDICAMENTS DANS QUATRE CENTRES DU DIAGNOSTIC ET DE TRAITEMENT DE LA TB AU BURKINA FASO EN AFRIQUE DE L'OUEST "**

Dans quatre centres de diagnostic et de traitement de la TB, deux spécifiques (Ouagadougou et Bobo-Dioulasso) et deux autres non spécifiques (Gorom-Gorom et Dori), des malades TBs-MR ont été comparés aux témoins (ceux dont les bacilles infectant sont sensibles à tous les médicaments testés) selon les variables prédictives suivantes : « le sexe, l'âge, le contage, la consommation d'alcool, le traitement traditionnel, long séjour à l'étranger (en Côte d'Ivoire particulièrement), l'expérience dans le traitement anti-TB, la nationalité, la profession, le statut VIH, le centre de diagnostic d'origine et l'état nutritionnel » pour déterminer les facteurs de risque associés à la MR. L'exploration des facteurs de risque a inclus 56 TBs-MR et 304 malades sensibles. De toutes les variables explorées, après analyse statistique par régression logistique, un long séjour à l'étranger, (OR= 0,014; 95% IC : 0,001-0,181), le contage (OR= 0,041; 95% IC : 0,005-0,345) et un traitement antérieur de tuberculose (**OR = 0,002; 95% IC : 0-0,030**) se sont avérés significativement associés à la TB-MR.

**Keywords:** *Tuberculose multirésistante, Facteurs de risque, Burkina Faso*









**cillaire des s?cr?tions bronchiques chez les tuberculeux pulmonair**

## **5. Article n°5**











**s traitement des expectorations par l'hypochlorite de sodium dans**

**ARTICLE N°6**

## **6. Article n°6 : Évaluation de la densité bacillaire avant et après traitement des expectorations par l'hypochlorite de sodium dans le diagnostic de la tuberculose**

### **RÉSUMÉ**

Pour évaluer l'amélioration induite par l'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 5% sur la densité bacillaire à l'examen direct, 516 expectorations mucopulentes fournies par 244 patients ont été analysées avant et après traitement au NaOCl 5% selon la méthode de Ziehl-Neelsen à chaud. Les résultats des deux lectures bacilloscopiques ont été comparés à l'aide du test de  $\chi^2$  selon McNemar au seuil de signification  $p < 0,05$ . A l'examen direct des échantillons non traités au NaOCl 5%, 357 étaient négatifs, 41 paucibacillaires, alors que 28, 40 et 50 étaient positifs 1+, 2+ et 3+ respectivement. Après traitement au NaOCl 5%, des 357 crachats négatifs, 14 (3,9%) renfermaient des bacilles (3,1% paucibacillaires et 0,8% de degré 1+). Parmi les 159 autres spécimens, la densité bacillaire a augmenté pour 77 (48,4%). Les deux lectures microscopiques diffèrent significativement ( $p = 0,001$ ). L'application du procédé en routine au laboratoire nécessiterait une réorganisation des tâches pour rendre les résultats aux malades à temps. Il est également nécessaire de tenir compte de l'aspect des crachats.



**7. Article n°7**





## **8. DISCUSSION GÉNÉRALE**

Le diagnostic bactériologique de la tuberculose et des mycobactérioses repose véritablement sur la culture. L'examen microscopique réalisé sur frottis coloré par la méthode de Ziehl-Neelsen met en évidence des BAAR. Malheureusement, il est non spécifique car il ne fait pas

la différence entre les espèces de mycobactéries. Au regard des résultats des cultures, 5,3% des malades diagnostiqués tuberculeux à l'examen microscopique ne l'étaient pas en réalité. Concernant les tests de sensibilité, parmi les 314 souches de *M. tuberculosis* isolées dans les nouveaux cas, 39 (12,4%) ont été résistantes à n'importe quel médicament. La résistance à l'isoniazide, la plus fréquente, a été de 8,6% de l'ensemble des souches éprouvées et de 69,2% des souches résistantes. La résistance à la streptomycine a été de 6,1% de l'ensemble des souches éprouvées et de 48,7% des souches résistantes alors que les résistances à l'éthambutol et à la rifampicine n'ont été observées que dans 3,5% des isolats pour chaque antibiotique. La résistance au couple HR a été de 1% des cas, 0,3% pour HRE et 1,9% pour HRES, d'où la MR totale est de 3,2%. La résistance à H seul a été la plus fréquemment observée (3,8%) suivie de S, (3,2%) et E (0,3%). Aucune souche ne s'est avérée résistante à R seule ; 7,3% de souches se sont avérées résistantes à 1 médicament antituberculeux, 2,9% à 2 médicaments, 0,3% à 3 et 1,9% à 4 médicaments. Là où les recommandations de l'OMS sont bien appliquées dans les "nouveaux cas", le taux global de résistance des *M. tuberculosis* aux antibiotiques est inférieur à 10% et celui de la MR moins de 3% (**Boulaḥbal, 2004**). Cette étude a trouvé 12,4% et 3,2% respectivement. Des valeurs plus élevées de la MR ont été trouvées au Ghana (**Owusu-Dabo et al., 2006**) (3,6%) et en Abkhazie (**Pardini et al., 2005**) (4,9%). Des taux plus faibles ont été observés en Algérie, 2,7% et en Egypte, 2,2% (**WHO/IUATLD, 2004**). Les résistances à la streptomycine et à l'isoniazide ont été les plus fréquentes. Cette situation peut avoir été occasionnée par la forte utilisation de ces médicaments dans le passé pour traiter d'autres maladies infectieuses (**Bercion et Kuaban, 1997**). **Kim et al. (1992)** ont en effet montré l'existence d'une relation entre une résistance aux antibiotiques et la durée de leur utilisation. Il est également probable que les taux élevés de résistance à l'isoniazide et à la streptomycine chez nos malades soient la conséquence de la forte résistance dans les cas avec antécédents de traitement à ces deux antibiotiques au Burkina Faso ; en effet, la prévalence de la résistance parmi les patients tuberculeux jamais traités est le reflet de l'importance de réservoir de souches résistantes parmi les cas traités antérieurement (**Wood, 1993 ; Boulaḥbal, 2004**). En guise de comparaison, des proportions de résistance plus élevées à l'isoniazide ont été observées au Ghana (4,2%) (**Owusu-Dabo et al., 2006**) et au Malawi (7,2%) (**Warndorff et al., 2000**). Le taux de résistance à la streptomycine (3,2%) dans l'ensemble des 4 centres au Burkina Faso était comparable aux 3,1% trouvés en Algérie (**WHO/IUATLD, 1999-2002**), mais plus faible que ceux observés ailleurs: 4,4% au Botswana, 8,5% à Madagascar (**Ratsirahonana et al., 2002**), 14,8% à Cotonou au Bénin (**Affolabi, 2007**) sur le Continent Africain, 9,0% trouvés en

Abkhazie (**Pardini et al., 2005**), 10,1% en Chine, 25,7% à Mashhad en Iran (**Namaei et al., 2006**) et 5% en Argentine.

Dans les anciens cas, des 89 souches testées, 60 (67,4%) étaient résistantes à tous les antibiotiques ; 67,4%, 51,6%, 44,9% et 50,6% se sont avérées résistantes à H, R, S et E respectivement ; 51,6% étaient multirésistantes. La multirésistance a été plus fréquente chez les cas chroniques (échec après deux cures de chimiothérapie) que dans les échecs au 5<sup>ème</sup> ou 7<sup>ème</sup> mois et les rechutes. La survenue de ces résistances peut être liée à une adhésion obsolète des patients au traitement ou au laxisme des pourvoyeurs de soins ; un problème de qualité des médicaments n'est pas à exclure. Malheureusement l'examen essentiel qu'est la culture avec antibiogramme n'est pas envisagé lors du suivi des malades, vu le peu d'intérêt accordé à la culture des mycobactéries. En comparaison avec d'autres résultats, des taux plus faibles ont été observés au Népal (40,9%), en Italie (47,2%), en Estonie (58,1%) (**WHO/IUATLD, 2004**), au Mexique (65%) (**Srinivas et al 2004**) et à Prague (52%) (**Saribas, 2004**). Des taux plus élevés ont été rapportés en Egypte (68,2%), en Russie (73,3%), au Kazakhstan (82,1%) (**WHO/IUATLD, 2004**), à Abidjan en Côte d'Ivoire (79%) (**Kouassi, 2004**), et au Japon (80%) (**Quy et al, 2003**).

On a observé une seule résistance à tous les médicaments parmi les 8 souches de *M. africanum* dans les nouveaux cas. La seule souche de *M. bovis* s'est avérée sensible à tout antibiotique. Des 4 souches de *M. africanum* isolées chez les cas avec antécédents de traitement, 2 se sont avérées résistantes à n'importe quelle drogue.

Les facteurs de risque pour une TB-MR diffèrent selon les études et les pays (**Casal et al., 2005; Faustini et al., 2006 ; Holtz et al., 2006**). Pour ce travail, l'absence de lien entre la TB-MR et le sexe est en accord avec les résultats d'autres travaux (**Weyer et al., 2007 ; Toungousova et al., 2002**). Contrairement à nos résultats, certaines études ont mis en évidence l'âge (**Moniruzzaman et al., 2006 ; Arévalo et al., 1996**), l'éthylisme (**Fleming et al., 2006 ; Wesner et al., 1990 ; Moshi et al., 1994 ; Chapman et al., 1992**) et la nationalité, (**Affolabi et al., 2007**) comme facteurs de risque pour une TB-MR.

Pour ce travail, l'infection par le VIH est associée à la TB-MR au regard du test standard de  $\chi^2$ , mais cette infection ne s'est pas avérée comme un facteur de risque après analyse multivariée par régression logistique ; ce qui corrobore les résultats d'autres études africaines (**Braun et al., 1992; Chum et al., 1996 ; Githui et al., 1992 ; Warndorff et al., 2000 ; Wilkinson et al., 1996 ; Kouassi et al., 2004**), mais contraste avec ceux des pays industrialisés (**Edlin et al., 1992; Frieden et al., 1993**). En fait, les patients TB/VIH+

présentent un risque plus élevé de mourir pendant le traitement et de souffrir de la toxicité des médicaments. Ceci est bien illustré par l'étude réalisée au Kwazulu Natal en Afrique du Sud (**Ghandi et al., 2006**).

Le contage comme facteur de risque de TB-MR suggère l'existence d'une transmission primaire de bacilles tuberculeux (**Kumar et al., 1984 ; Gilpin et al., 1987 ; Wang et Lin, 2000 ; Noertjojo et al., 2002 ; Claessens et al., 2002**), d'où la nécessité d'améliorer la recherche des cas, particulièrement dans les ménages des patients TB à frottis positifs. Les études d'épidémiologie moléculaire utilisant les empreintes digitales de DNA des isolats devraient faire progresser davantage notre compréhension.

Le lien de la TB-MR avec un long séjour hors du Burkina Faso, en Côte d'Ivoire particulièrement où un taux élevé de la MR aux anti-TB a été rapporté (**Kouassi et al., 2004**), suggère une importation des souches MR à partir des pays hôtes. Cela rend nécessaire la collaboration entre le PNT du Burkina Faso et les autres PNTs des pays limitrophes en vue d'améliorer la prise en charge des malades et de limiter la propagation des bacilles MR.

Le re-traitement qui est lui aussi un facteur de risque important pour une TB-MR (**Faustini et al., 2006 ; Holtz et al., 2006 ; Ormerod, 2005**), suggère, dans le cas présent, l'amélioration de la gestion des cas jusqu'à la guérison.

## **9. LIMITES DE L'ETUDE**

Les difficultés rencontrées au cours de l'étude (problèmes d'ordre humain, matériel et logistique ainsi que la réticence de certains malades) ont conduit à un remplissage incomplet des fiches, notamment au regard des variables comme le contage, la consommation d'alcool, le recours au traitement traditionnel, la profession et le statut VIH, à une conservation non optimale des souches au CMA de Gorom-Gorom et à un nombre réduit de malades inclus dans certains centres.

La reconstruction des locaux du CNLAT intervenue au cours de l'étude a été un handicap sérieux pour la poursuite des identifications des souches et l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques ainsi qu'à la conservation.

## CONCLUSION, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude, l'espèce *M. tuberculosis* a été de loin la plus fréquemment isolée (91,7%), suivie par les MNT (5,3%), le *M. africanum* (2,6% %) et enfin par le *M. bovis* (0,4%). La prédominance du Complexe *tuberculosis* (ici 94,7%) justifie dans les pays en voie de développement, l'usage du mot « tuberculose » chez tout malade dont les expectorations sont positifs pour les bacilles acido-alcooloo résistants à l'examen microscopique. La recommandation par l'OMS de cet examen comme outil clé de diagnostic de la tuberculose tire en partie sa source de ce constat d'autant plus que des analyses plus spécifiques, telle que la culture, ne pourraient être utilisées en diagnostic de routine dans les pays à ressources limitées.

Les résistances des souches tuberculeuses aux antibiotiques ont été observées aussi bien dans les « cas jamais traités » que dans les « cas traités antérieurement ». Parmi les nouveaux malades, les taux de MR (3,2%) et de résistance globale (12,4%) surpassent les seuils

critiques fixés par l'OMS, (respectivement <3% et <10%). Les taux de résistance globale (67,4%) et de MR (51,6%) ont été surtout très élevés dans les « anciens cas » parmi lesquels on dénombre plus de chroniques.

Au regard de toutes les variables explorées, seules « un long séjour hors du Burkina Faso (Côte-d'Ivoire en particulier), la notion de contagé et surtout l'échec de traitement anti-TB » se sont avérés être des facteurs de risque significativement associés à la TB-MR. L'infection à VIH n'est pas liée à la TB-MR. Toutefois, proposer la sérologie VIH à tout tuberculeux pour le mettre en cas de nécessité dans le circuit de la prise en charge intégrée des tuberculeux VIH+ (conseils, traitement gratuit des infections opportunistes, prescription des antirétroviraux, don alimentaire) nous semble d'une impérieuse nécessité.

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que des efforts en matière de prévention et de gestion des cas doivent être faits pour améliorer les stratégies de contrôle de la TB. Ceci suppose un dépistage précoce des cas contagieux et la conduite du traitement de façon adéquate jusqu'à la guérison des malades. Cette stratégie pourrait permettre d'éviter les récurrences et de prévenir l'apparition des résistances. Par la même occasion, la chaîne de transmission du bacille tuberculeux s'en trouverait brisée et les sources de contamination tarées. Il serait également opportun d'améliorer la qualité de la prise en charge des malades en situation d'échec par une culture systématique des crachats avec antibiogramme. Ce dernier garde toute son importance pour la surveillance des multirésistances et demeure indispensable pour adapter les traitements des anciens tuberculeux présentant une résistance aux antibiotiques (**Schwoebel *et al.*, 2000**).

L'étude a été complétée par des articles sur la microscopie. Il a été montré que l'hypochlorite de sodium 5% améliorerait la sensibilité des résultats de la bacilloscopie. Par ailleurs, les sécrétions bronchiques des bacilles chez les patients tuberculeux pulmonaires étaient influencées par un certain nombre de facteurs, particulièrement par l'infection à VIH.

En perspective, nous nous proposons de poursuivre la présente étude par la caractérisation moléculaire des souches qui ont été conservées. Il s'agira d'établir les gènes de résistance aux médicaments et de montrer le lien génomique entre les souches tuberculeuses qui circulent chez les malades. En outre, un projet de recherche de la réactivité de sérums des sujets tuberculeux vis-à-vis des antigènes de *M. tuberculosis* pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire est en vue.

En guise de recommandations, nous interpellons les autorités sanitaires et la Coordination du PNT pour la prise en charge gratuite du suivi biologique des sujets tuberculeux, le renforcement du plateau technique et la compétence du personnel du laboratoire des mycobactéries du CNLAT par l'acquisition de matériels et la formation ainsi que pour favoriser et promouvoir la recherche sur les mycobactéries et d'associer les guérisseurs traditionnels dans les activités éducatives du PNT.

# **Références BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Affolabi D., Adjagba O.A.B.G., Tanimomo-Kledjo B., Gninafon M., Anagonou S.Y. et Portaels F.**, 2007. Résistance aux médicaments antituberculeux chez les cas de tuberculose pulmonaire nouveaux ou traités antérieurement à Cotonou, Bénin. *In J Tuberc Lung Dis* **11**: 1221-1224.
2. **Ait-Khaled N., Enarson D. et Billo N.**, 1997. Epidémiologie de la tuberculose et de la résistance aux antituberculeux. *Rev Mal Resp* **14**: 5S8–5S18.
3. **American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Disease Society of America**, 2003. Treatment of Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* **167**: 603–62.
4. **Anonyme**, 2001. Evaluation de l'état nutritionnel : *Cah Nut Diét* **36**: 2S111-2S116.
5. **Arévalo M., Solera J., Cebrian D., Bartolomé J. et Robles P.**, 1996. Risk factors associated with drug-resistant Mycobacterium tuberculosis in Castilla-la-Mancha (Spain). *Eur Resp J* **9**: 2188-9.
6. **Bednall R., Dean G. et Bateman N.**, 1999. Directly observed therapy for the treatment of tuberculosis – evidence-based dosage guidelines. *Resp Med* **93**: 759–62.
7. **Bercion R., Cunin P. et Kuaban C.**, 2000. Evolution sur neuf ans (1989-1998) de la séroprévalence du VIH chez les tuberculeux pulmonaires bacillifères au Cameroun. *Med Trop* **60**: 400.
8. **Bercion R. et Kuaban C.**, 1997. Initial resistance to antituberculosis drug in Yaoundé, Cameroun, in 1995. *Int J Tuberc Lung Dis* **1**: 110-114.
- Blanc P., Minodier P., Dubus J.C., Uters M., Bosdure E., Retornaz K. et Garnier J.M.**, 2007. Les nouveaux tests diagnostiques de la tuberculose. *Rev Mal Resp* **24** : 441-52.
9. **Boulahbal F. et Chaulet P.**, 2004. La tuberculose en Afrique, épidémiologie et mesure de lutte. *Med Trop* **64**: 224-228.
10. **Borgdorff M.W., Nagelkerke N.J.D., Dye C. et Nunn P.**, 2000. Genre et tuberculose: une comparaison entre les enquêtes de prévalence et les données de déclaration pour explorer les différences entre sexes dans la détection des cas. *Int J Tuberc Lung Dis* **4** : 123-132.
11. **Bovet P., Ross A.G., Gervasoni J.P., Mkamba M., Mtasiwa D.M., Lengeler Ch., Whiting D. et Paccaud F.**, 2002. Tuberculosis body mass index. *Int J Epidemiol* **31**: 240-247.
12. **Bradley S.G.**, 1973. Relationships among mycobacteria and Nocardia based upon

deoxyribonucleic acid reassociation. *J Bacteriol* **113**: 645-651.

**13. Braun M.M., Kilburn J.O., Smithwick R.W., et al.,** 1992. HIV infection and primary resistance to antituberculosis drug in Abidjan, Cote d'Ivoire. *AIDS* **6**: 1327-1330.

**14. Broekmans J.F., Migliori G.B., Rieder H.L., Lees J., Ruutu P. et al.,** 2002. European framework for tuberculosis control and elimination in countries with a low incidence. *Eur Respir J* **19**: 765-75.

**15. Bryskier A. et Couturier C.,** 2003. La tuberculose et son traitement à travers les âges. *Antibiotiques* **5**: 233-239.

**16. Butler W.R. et Guthertz L.S.,** 2001. Mycolic acid analysis by high-performance liquid chromatography for identification of Mycobacterium species. *Clin Microbiol Rev* **14**: 704-26

**17. Canetti G, Rist N. et Grosset J.,** 1963. Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Revue de Tuberculose et Pneumologie* **27**: 217-272.

**18. Carbonelle B., Dailoux M., Lebrun L., Maugein J. et Pernot C.,** 2003. Biologie médicale. Mycobactéries, Mycobactérioses. *Cahier de Formation* **29**: 158 p.

**19. Clarridge J.E., Shawara R.M., Shasnick T.M. et Plkaytis B.B.,** 1993. Large-scale use of polymerase chain reaction for detection of mycobacteriology laboratory. *J Clin Microbiol* **20** : 2049 – 56.

**20. Casal M., Vaquero M., Rinder H. et al.,** 2005. A case-control study for Multidrug-resistant tuberculosis risk factors in four European countries. *Microbial Drug resistance* **11**: 62-67.

**21. Chapman R.C. et Claydon S.M.,** 1992. Mycobacterium tuberculosis: a continuing cause of sudden and unexpected death in West London. *J Clin Path* **45**: 713-715.

**22. Charpin D., Herbault M., Gevaudan M.J., Saadjian M., De Micco P., Arnaud A., Vervloet D. et Charpin J.,** 1990. Value of ELISA using A60 antigen in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Amer Rev Respir Dis* **142**: 380-384.

**23. Chum H.J., O'Brien R.J., Chonde T.M., Graf P. et Rieder H.L.,** 1996. An epidemiological study of tuberculosis and HIV infection in Tanzania, 1991-1993. *AIDS* **10**: 299-309.

**24 Claessens N.M., Gausi F.F., Meijnen S., Weismuller M.M., Salaniponi F.M., Harries A.D.,** 2002. Fréquence élevée de la tuberculose dans les ménages de cas-index de TB. *Int J Tuberc Lung Dis* **6**: 266-269.

**25. Demissie M., Gebeyehu M. et Berhane Y.,** 1997. Primary resistance to antituberculosis drugs in Addis Ababa, Ethiopia. *Int J Tuberc Lung Dis* **1**: 64-67.

- 26. Diagbouga S., Fumoux F., Zoubga A., Sanou P.T. and Marchal G.,** 1997. Immunoblot analysis for serodiagnosis of tuberculosis using a 45/47- kilodalton antigen complex of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, **4**: 334-338.
- 27. Diande S., Sangare L., Koanda S., Sawadogo P., Sawadogo T.L., Gueye A. et al.,** 2009a. Exploration des facteurs influençant la densité bacillaire des sécrétions bronchiques chez les tuberculeux pulmonaires à Ouagadougou, Burkina Faso. *Med Afr Noire* **56**: 9-14.
- 28. Diande S., Sangare L., Kouanda S., Dingtounda B.I. et Traore S.A.,** 2009b. Évaluation de la densité bacillaire avant et après traitement des expectorations par l'hypochlorite de sodium dans le diagnostic de la tuberculose. *Bull Soc Pathol Exot* **102**: 14-15.
- 29. Dixmier A., Meynard J.L., Lalande V., Lebeau B. et Chouaïd C.** Les infections pulmonaires à *Mycobacterium xenopi* en dehors du VIH/SIDA : étude rétrospective sur dix cas. *Rev Mal Resp* 2007 ; DOI: 10.1019/20064220 : 1-13.
- 30. Dye C.,** 2006. Global epidemiology of tuberculosis. *Lancet* **367**: 938-940.
- 31. Edlin B.R., Tokars J.I., Grieco M.H., Crawford J.T., Williams J., Sordillo E.M., et al.,** 1992. An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* **326**: 1514-1521.
- 32. EL Helari N. et Vergez P.,** 1993. Identification des mycobactéries. *Feuill Biol XXXIV* **90**: 5-15.
- 33. Ellard G., Humphries M. et Allen B.,** 1993. Cerebrospinal fluid drug concentrations in the treatment of tuberculous meningitis. *Am Rev Respir Dis* **148**: 650-5.
- 34. Enarson D.A., Rieder H.L., Arnadottir T. et Trébuq A.,** 2000. Managements of tuberculosis: guide for low income countries. 5th ed. Paris: WHO/IUATLD.
- 35. Faustini A., Hall A.J. et Perucci C.A.,** 2006. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review. *Thorax* **61**:158-163.
- 36.. Fleming M.F., Krupitsky E., Tsoy M., Zvartau E., Brazhenko N., Jakubowiak W. et Mccaul M.E.,** 2006. Alcohol and drug use disorders, HIV status and drug resistance in a sample Russian TB patients. *Int J Lung Dis* **10**: 565-570.
- 37.. Frieden T.R., Sterling T., Pablos-Mendez A., Kilburn J.O., Gauthen G. et Dooley S.W.,** 1993. The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City. *N Engl J Med* **328**: 521-532.
- 38. Frothingham R., Strickland P.L., Bretezl G., Ramawamy S., Musser J.M. et Williams D.L.,** 1999. Phenotypic and genotypic characterization of *Mycobacterium africanum* isolates from West Africa. *J Clin Microbiol* **37**: 1921-1926.

- 39. Gadola S.D.**, 2006. Diagnostic de l'infection latente à *Mycobacterium tuberculosis*: raisons pour lesquelles le test à la tuberculine est obsolète et quels tests le remplacent. *Forum Med suisse* **6** : 385-386.
- 40. Gadret M., Goursolle M., Leger J.M. et Colleter J.C.**, 1975. Structure cristalline de la rifampicine  $C_{43}N_4O_{12}H_{58} \cdot 5H_2O$ . *Acta Cryst.* **B31** : 1454-1462
- 41. Gallagher D., Visser M., Sepúlveda D., Pierson R.N., Harris T. et Heymsfield S.B.**, 1996. Tuberculosis body mass index. *Am Epidemiol* **143**: 228-239.
- Ghandi N.R., Moll A., Sturm A.W., et al.**, 2006. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet*, **368**:1554–6.
- 42. Gbery I.P., Djeha D., Yobouet P., Aka B. et Kanga J-M.**, 1996. Infections cutanées à mycobactéries atypiques. *Cahier Santé*, **6** : 317-322.
- 43. Githui W., Nunn P.P., Juma E., et al.**, 1992. Cohort study of HIV-positive and HIV-negative tuberculosis, Nairobi, Kenya: comparison of bacteriological results. *Tuberc Lung Dis* **73**: 203-209.
- 44. Gilpin T.P. Hammond M.**, 1987. Active case finding-for the whole community or for TB contacts only? *S Afr Med J* **72**: 260-262.
- 45. Good R.C., and Shinnick T.M.**, 1998. *Mycobacterium*. In: "Topley's and Wilson's microbiology and microbial infections, systematic bacteriology." Collier A.B.L. and Susman M. (ed), 9th ed, Edward Arnold, London, 496-576.
- 46. Haas W.H., Bretezl G., Amthor B., Schilke K., Krommes G., Rush-Gerdes S., et al.**, 1997. Comparison of DNA fingerprint patterns of isolates of *Mycobacterium africanum* isolates from East and West Africa. *J Clin Microbiol* **35**: 663-666.
- 47. Harries A.D.**, 2005. VIH/SIDA: l'épidémie, son impact et le reflux de la marée. *Int J tuberc Dis* **9** : 471-474.
- 48. Hars J., Thorel M.F, Boschioli M.L, Belli P., Vardon J., Desrus D. et al.**, 2001-2002. Programme de surveillance de la tuberculose sur les ongulés sauvages de la forêt de Brotonne.
- 49. Holtz T.H., Lancaster J., Laserson K.F. et al.**, 2006. Risk Factors associated with default from multidrug-resistant tuberculosis treatment, South Africa, 1999-2001. *Int J Tuberc Lung Dis* **10**: 649-655.
- 50. Iseman M.D.**, 1993. Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *New Engl J Med* **329**: 784–91.
- 51. Jawetz E., Melnick J.L. et Adelberg E.A.** 1968. Review of medical microbiology.

Blackwell Scientific. Publication. Oxford and Edinburgh. Lange medical Publication.

- 52. Kamerbeek J., Schouls L.M., van Agterveld M., van Soolingen D., Bunschoten A.E., Kolk A.H.J., et al.,** 1997. Rapid detection and simultaneous strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and tuberculosis control. *J Clin Microbiol* **35**: 907-914.
- 53. Kaustova J.,** 1996. Serological IgG, IgM and IgA diagnosis and prognosis of mycobacterial diseases in routine practice. *Eur J Med Res* **1**: 393-403.
- 54. Kim S.J. et Hong Y.P.,** 1992. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Korea. *In J Tuberc Lung Dis* **4**: 219-224.
- 55. Kouassi B., Horo K., N'Douba K.A., Koffi N., Ngom A., Aka-Danguy E. et Dosso M.,** 2004. Profil épidémiologique et microbiologique des malades tuberculeux en situation d'échec ou de rechute à Abidjan. *Bull Soc Exot* **97**: 336-337.
- 56. Kuaban C., Bercion R., Jifon G. et al.,** 2000. Acquired anti-tuberculosis drug resistance in Yaounde, Cameroon. *Int J Tuberc Lung Dis* **4**: 427-432.
- 57. Kumar R.A., Saran M., Verma B.L. et Srivastava R.N.,** 1984. Pulmonary TB among contacts of patients with TB in an urban Indian population. *J Epidemiol Community Health* **38**: 253-258.
- 58. Labie D.,** 2007. Résistance de *Mycobacterium tuberculosis*. *Medecine/Sciences* **23** : 205-9.
- 59. Lagrange P.H., Wargnier A. et Hermann L.L,** 2000. Ré-émergence de la tuberculose et multirésistance du bacille de Koch. *Med/Scie* **16** : 900-4.
- 60. Ledru S., Cauchoix B., Yameogo M., et al.,** 1996. Impact of short-course therapy on tuberculosis drug resistance in South-West Burkina Faso. *Tuberc Lung Dis* **77**: 429-436.
- 61. Lee R.E., Protopopova M., Crooks E., Slayden R.A., Terrot M. et Barry C.E.,** 2003. Combinatorial Lead Optimization of [1,2]-Diamines Based on Ethambutol as Potential Antituberculosis Preclinical Candidates. *J Comb Chem* **5** : 172-187
- 62. Leuenberger P. et Zellweger J.P.,** 2000. Drugs used in tuberculosis and leprosy. In: Meyler's Side Effects of Drugs, 14th Edition. MNG Dukes and JK Aronson, editors. Elsevier Science.
- 63. Mal H.,** 2006. Mycobactéries non tuberculeuses. *Rev Mal Respir* **23** : 15S89-15S91
- 64. Malvy D., Rodolphe Thiébaud M.D., Marimoutou C.M.D., Dabis F.M.D. et the groupe d'Epidémiologie Clinique du sida en Aquitaine,** 2001. Weight Loss and Body Mass Index as Predictors of HIV Disease Progression to AIDS in Adults. Aquitaine Cohort, France, 1985-1997. *J Amer Coll Nut* **20** : 609-615.

- 65. Mercedes María, Darío García de Viedma, María Jusús, Ruiz Serrano et Emilio Bouza**, 2004. Rapid direct of multiple rifampin and Isoniazid resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory samples by Real-Time PCR. *ACC* 48: 4293-4300.
- 66. Migliori G.B., Raviglione M.C., Schaberg T., Davies P.D.O., Zellweger J.P., Grzemska M. et al.**, 1999. Task Force of ERS, WHO and the Europe Region of IUATLD. Tuberculosis management in Europe. *Eur Respir J* 14: 978–92.
- 67. Moshi M., Ravindran P., Ghohs C.S. et Balachandran J.**, 1994. Risk factors for severe disease in pulmonary tuberculosis. XII th annual meeting of the International Clinical *Epidemiology Network (INCLEN)*, 23-28. (Abstract 047).
- 68. Miltgen J., Morillon M., Koeck J-L., Varnerot A., Briant J-F., Nguyen G., Verrot D., Bonnet D. et Vincent V.**, 2002. Two cases of pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* subsp *canetti*. *Emerging Infect Dis* 8: 1350-1352.
- 69. Ministère de la Santé**, 2006. Rapport de la séro surveillance 2006 des sites sentinelles du Burkina Faso.
- 70. Moniruzzaman A., Elwood R.K. Schulzer M. et Fitzgerald J.M.**, 2006. A population-based study of risk factors for drug-resistant TB in British Columbia. *Int J Lung Dis* 10: 631-638.
- 71. Namaei H.M., Sadeghian A., Naderinasab M. et Ziaee M.**, 2006. Prevalence of primary drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*, in Mashhad, Iran. *Ind J Med Res* 124: 77-80.
- 72. Niyongabo T.**, 1997. Malnutrition et infection par le VIH à paris et Bujumbura (prévalence, mécanisme et signification). Thèse 3: 186p.
- 73. Noertjojo K., Tam C.M., Chan Z., Tam J. et Chang-Yeug M.**, 2002. Contact examination for TB in Hong Kong is useful. *Int J Lung Dis* 6 : 19-24.
- 74. Okamba P., Staal A., Tabary T., Le Ber V., Panter-Brick B., Boyer C., and Rio Y.**, 2008. Signification de Quantiféron TB Gold en tube en dépistage de la tuberculose parmi le personnel hospitalier en cas d'intradermoréactions positives très anciennes ou récentes. *Path Biol* 56 : 467-470.
- 75. Organisation Mondiale de la Santé**, 2009. Journée mondiale de la tuberculose. FARES 2p.
- 76. Organisation Mondiale de la Santé**, 2008. Principes directeurs à l'intention des programmes antituberculeux pour la prise en charge des tuberculoses pharmacorésistantes. OMS, 2008.
- 77. Organisation Mondiale de la Santé**, 2006. Groupe Spécial Mondial de l'OMS sur la tuberculose à bacilles ultrarésistants. *Int J Lung Dis* 6: 19-24.

- 78. Organisation Mondiale de la Santé**, 2005. Maladies transmissibles et situations de pénurie alimentaire sévère ; malnutrition et maladies transmissibles. Communicable diseases working group on emergencies (CD-WGE).
- 79. Ormerod L.P.**, 2005. Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB): epidemiology, prevention and treatment. *British Medical Bulletin* **73&74**:17-24.
- 80. Owusu-Dabo E., Adjei O., Meyer C., Horstmann R.D., Enimil A., Kruppa T.F., Bonsu F., et al.**, 2006. *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance, Ghana. *Emerg Inf Dis* **12**: 170-172.
- 81. Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA (ONUSIDA) – OMS**, 1997. Recommandations concernant le choix et l'utilisation des tests de mise en évidence des anticorps anti-VIH – Version révisée. *WEEKLY EPIDEMIOLOGICAL RECORD* **72**: 81-88.
- 82. Pablos-Mendez A., Raviglione M.C., Laszlo A., Binkin N., Rieder H.L et al.**, 1998. Global surveillance for antituberculosis-drug resistance, 1994–1997. *N Engl J Med* **338**: 1641–9.
- 83. Pardini M., Lona E., Varaine F., Karakoziun H., Arzumanian H., Brunori L., Orefici G. and the Long-Drug Study Group, Fattorini L.**, 2005. *Mycobacterium tuberculosis* Drug Resistance, Abkhazia. *Emerg Inf Dis* **11**: 5501-5503.
- 84. Partnership, S.T.**, 2006. The Global Plan to Stop TB, 2006-2015. Actions for life: towards a world free of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*, **10**: 240-1.
- 85. Phillips M.S. et Von Reyn C. F.**, 2001. Nosocomial infections due to nontuberculous mycobacteria. *Clin Infect Dis* **33**: 1363-1374.
- 86. Prendki V., Germaud, P., Bemer P., Masseur A. and M. Hamidou**, 2008. Les infections à mycobactéries non tuberculeuses. *Rev Med intern* 2008 ; **29** : 370-379.
- 87. Quy H.T.W., Lan N.T.N., Borgdorff M.W., Grosset J., Linh P.D., Tung L.B. et al.**, 2003. Drug resistance among failure and relapse cases of tuberculosis: is the standard re-treatment regimen adequate? *In J Tuberc Lung Dis* **7**: 631-636.
- 88. Ratsirahonana O., Rasolofo R.V., Rasolonalona T., Rakotonirina V., Rakotoarisaonina A., Rakotoherisoa A., et al.**, 2002. Résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux antituberculeux à Antananarivo en 2000. *Arch Inst Pasteur de Madagascar* **68**: 44-47.
- 89. Rakotondramarina D., Razafimalala E., Andrianaivo P. et Rabeson D.**, 2000. Aspect épidémiologique de la tuberculose dans le Moyen-Ouest malgache. *Bull Soc Exot* **93**:337-339.
- 90. Robert J., Trystram D., Truffot-Pernot C., Cambau E., Jarlier V. et Grosset J.**, 2000. Vingt cinq ans de tuberculose dans un hôpital universitaire français : le point de vue de

laboratoire. *In J Tuberc Lung Dis* **4**: 504-512.

**91. Runyon E.H.**, 1959. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med Clin North Am* **43**: 273-290.

**92. Saribas S.**, 2004. Resistance problems in *Mycobacterium tuberculosis*: evaluation of the resistance of 166 *M. tuberculosis* strains against four major drugs. *Euro Soc Clin Microbiol Infect Dis Abstract N- 902*: 1287.

**93. Schwoebel V., Lambregts C.S.B., Moro M.L, Drobniewski F., Hoffner S.E., Raviglione M.C. et Rieder H.L. au nom d'un groupe de travail de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et de l'Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires (UIATLD)**, 2000. Surveillance de la résistance aux antituberculeux : les recommandations européennes. *Eurosurveillance* **5** : 104-6.

**94. Séverine FERDINAND, Sylvie CASSADOU, Nalin RASTOGI, 2007.** Transmission de la tuberculose en Guadeloupe : Etude des facteurs de risque de transmission récente et des filières de contamination et de soins. Observatoire Régional de la Santé de Guadeloupe (ORSaG), 1-6.

**95. Small P. et Fujiwara P.**, 2001. Management of tuberculosis in the United States. *NEJM* **345**: 189–200.

**96. Spence D.P.S., Hotchkiss J., Williams C.S.D. et Davies P.D.O.**, 1993. Tuberculosis and poverty. *BMJ* **307**: 759-761.

**97. Srinivas V., Ramaswamy Shu-Jun D., Adrian R., Zhenhua Y., Cave D.M. et Edward A.G.**, 2004. Genotypic analysis of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Monterrey, Mexico. *J Med Microbiol* **53**: 107-113.

**98. Toungousova O.S., Caugant D.A., Sandven P., Mariandyshev A.O. et Bjune G.**, 2002. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from patients with pulmonary tuberculosis in Archangels, Russia. *Int J Lung Dis* **6**: 406-414.

**99. Tverdal A.**, 1986. Body mass index **and incidence of tuberculosis.** *Eur J Resp Dis* **69**: 355-62.

**100. U.S. Department of health and human service, Atlanta et Georgia**, 1998. Prevention and treatment of tuberculosis among patients infected with human immunodeficiency virus: principles of therapy and revised recommendation. *MMWR* **47**: 1–58.

**101. U.S. Department of health and human service, Atlanta et Georgia**, 1992. Management of persons exposed to multidrug-resistant tuberculosis. *MMWR* **41**: 61–71.

**102. Van Deun A., Aung K.J.M., Chowdhury S., Saha S., Pankaj A., Ashraf A., et al.**, 1993. Drug-susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* in rural area of Bangladesh and its

relevance to the national treatment regimens. *Int J Tuberc Lung Dis* **3**: 143-148.

**103. Van Lettow M., Harries A.D., Kumwenda J.J., Zijlstra E.E., Clark T.D., Taha T.E. et Semba R.D., 2004.** Links Micronutrient malnutrition and wasting in adults with pulmonary tuberculosis with and without HIV co-infection in Malawi. *BMC Infect Dis* **4**: 61.

**104. Van Soolingen D., Hoogenboezem T., De Haas P. E., Hermans P. W., Koedam, M.A., Teppema K.S., et al., 1997.** A novel pathogenic taxon of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, *canetti*: characterization of an exceptional isolate from Africa. *Int J Syst Bacteriol* **47** : 1236-1245.

**105. Veen J., Raviglione M., Rieder H.L., Migliori G.B., Graf P. et al., 1998.** Standardized tuberculosis treatment outcome monitoring in Europe. *Eur Respir J* **12**: 505–10.

**106. Viana-Niero C., Gutierrez C., Sola C., Filliol L., Boulahbal F., Vincent V. et al., 2000.** Genetic diversity of *Mycobacterium africanum* clinical isolates based on IS6110-restriction fragment length polymorphism analysis, spoligotyping, and variable number of tandem DNA repeats. *J Clin Microbiol* **39**: 57-65.

**107. Vincent V., 1995.** Taxonomie des mycobactéries. [\*Revue Française des Laboratoires\*](#). **1995**: 27-31.

**108. Wang P.D. et Lin R.S., 2000.** TB transmission in the family. *J Infect* **41**: 249-251.

**109. Warndorff D.K., Yates M., Ngwira B., Chagaluka S., Jenkins P.A., Drobniewicki F. et al., 2000.** Trends in antituberculosis drug resistance in Karonga, Malawi, 1986-1998. *Int J Tuberc Lung Dis* **4**: 752-757.

**110. Wells A.Q. et Oxon D.M., 1937.** Tuberculosis in Wild voles. *Lancet*, **i**: 1221.

**Wiesner B., Roth G. and Hamel U., 1990.** The causes of severe forms of tuberculosis. *Pneumologie* **44**: 499-500.

**111. Weyer K., Brand J., Lancaster J. et al., 2007.** Determinants of multidrug-resistant tuberculosis in South Africa: results from a national survey. *SMJ* **97**:1120-1128.

**112. WHO Report 2009.** Global Tuberculosis Control. WHO 2009, 314P.

**113. WHO/IUATLD, 2004.** Anti-tuberculosis drug resistance in the world: third global report/the WHO/IUATLD Global Project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance 1999-2002

**114. WHO Report 2008.** Global Tuberculosis Control. WHO 2008.

**115. WHO, 1997.** Anti-tuberculosis drug resistance in the World: The WHO/IUATLD global

**116. Wilkinson D., Pillay M., Davies G.R. et Sturm A.W., 1996.** Resistance to antituberculosis drugs in rural South Africa: rates, patterns, risk and transmission dynamics. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* **90**: 692-695.

- 117. Wood A.J.J.**, 1993. Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med* **329**: 784-791. Project on anti-tuberculosis drug resistance surveillance, 1994-1997. Geneva, Switzerland: WHO Global Tuberculosis Program, 1997; report n°. *WHO/TB/97.229*.
- 118. Zignol M., Hosseini M.S., Wright A. et al.**, 2006. Global incidence of multidrug resistant tuberculosis. *J Infect Dis* **194**: 479- 485.
- 119. [www.bacterio.cict.fr](http://www.bacterio.cict.fr)**
- 120. [www.recherche-fr.com/bk](http://www.recherche-fr.com/bk)**

# ANNEXE

## ANNEXE 1 : FICHE DE RENSEIGNEMENTS

**Identifiant :** ..... Nom et Prénoms : ----- Age : ----- (ans) Sexe : --- Unité de soins : ..... ; Ethnie : ----- Pays d'origine : ----- Résidence actuelle..... ; Séjour à l'étranger : Oui [ ] (préciser le pays et la durée)..... ; Non [ ] ; Profession : ----- ; service.....Tel: ----- ; microscopie: A.....; B:.....; C:..... ; (Porter le degré de positivité) ;  
-----

### Antécédents de tuberculose:

Déjà traité pour la tuberculose : Oui [ ] Non [ ]

#### Si non :

Durée des symptômes avant consultation ----- ; durée entre la 1<sup>ère</sup> la (les) consultation(s) et le diagnostic bactériologique .....

Avez-vous déjà souffert des mêmes symptômes dans le passé ? Oui [ ] Non [ ] .

Avez-vous eu d'autres symptômes d'atteintes pulmonaires dans le passé (hémoptysie, douleurs thoraciques, toux,) ? Oui [ ] Non [ ] .

Avez-vous déjà eu un examen radiologique des poumons ? Oui [ ] Non [ ] .

Avez-vous eu un examen des expectorations ? Oui [ ] Non [ ] .

Avez-vous déjà suivi un traitement médical pendant plus d'un mois ? Oui [ ] Non [ ] .

Avez-vous suivi un traitement par injection pendant plus d'un mois ? Oui [ ] Non [ ] ; si oui préciser le produit (streptomycine) :.....

Le malade se souvient-il d'un traitement antituberculeux antérieur à la suite de ces questions? Oui [ ] ; Non [ ] .

#### Si oui : Renseignements sur les traitements antérieurs :

Où le malade a-t-il déjà été traité ?-----

Quand a-t-il été traité ?-----

Combien de fois a-t-il été traité ?-----

Résultats du dernier traitement selon le malade : guérison ? Oui [ ] Non [ ] Ne sait pas [ ] .

#### Dossiers médicaux

Le malade a déjà été enregistré pour un traitement antituberculeux : Oui [ ] Non [ ] . Si oui résultat du dernier schéma de chimiothérapie : Guéri [ ] , traitement achevé [ ] , Abandon [ ] , Echec [ ] , Transfert [ ] .

#### Décision finale

Le malade a déjà été traité pour la tuberculose pendant plus d'un mois ? Oui [ ] ; Non [ ] Douteux [ ] .

Si oui, l'issue du traitement précédent :

#### Autres informations:

Antécédents de TB dans le domicile: Oui [ ] ; Non [ ] (préciser le degré de parenté).

Maladies associées: diabète [ ] , asthme [ ] , autres.....

Consommation abusive d'alcool : Oui [ ] ; Non [ ] ; A déjà subi une cure de désintoxication : Oui [ ] ; Non [ ] .

Recours à la pharmacopée: Oui [ ] ; Non [ ] (si oui, préciser la plante ou le produit, la durée et le mode d'utilisation):.....

Mesures anthropométriques : Poids (kg) :..... ; Taille (m) : ..... ; décompte des lymphocytes T CD4+ : .....

Date d'enregistrement du malade :

**Cachet du laboratoire**