

Abreviation:

MNT: mycobacteries non tuberculeuses

MOTT: *Mycobacteria others than tuberculosis*

CMT: complexe mycobacterium tuberculosis

BAAR: bacille acido- alcool- résistant

VIH: virus de l'immunodéficience humain

SIDA: syndrome de l'immunodéficience acquis

G+C: Guanine cytosine

UV : ultra violet

PAS: acide para amino salicylique

ATS /IDSA: American Thoracic Society / l'Infectious Disease Society of America

ARN: acide

MAC: complexe mycobacterium avium

OMS: organisation mondiale de la santé

CHU : centre hospitalier universitaire

CD4 : cluster de différenciation 4

ARV : antirétroviraux

EFV :Efavirenz

NVP :Niverapine

INNTI :Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse

DDB: dilatation des bronches

TNF: tumor necrosis factor

ORL: **Oto-rhino-laryngologie**

IDR: intradermoreaction

LBD: bronchoalvéolaire

BTS: British Thoracic Society

MGIT: Mycobacterial Growth Indicator Tube

LED: Diode Electro-Luminescent

INF:interferon

CS.Ref: centre de santé et de reference

USSTTB :université des sciences sociales de techniques et de technologies de Bamako

IRB: Internal Review Board

NIH: National Institute of Health

SOMMAIRE:

1	Introduction :	
...	1	
2	Objectifs :	
...	3	
2-1	Objectif	
	général :.....	3
2-2	Objectifs	
	spécifiques	3
3	Généralités	
...	4	
3-1.		
	Définition.....	4
3-2.	Historique des mycobactéries	
	atypiques.....	5
3-3.	Epidémiologie des Mycobactéries	
	atypiques.....	6
3-3-1.	Classification et	
	Morphologies.....	6
3-3-1-1.		
	Classification.....	6
3-3-1-1-1.	Groupe 1, Les Photo	
	chromogènes	6
3-3-1-1-2.	Groupe 2. Les	
	Scotochromogènes	6
3-3-1-1-3.	Groupe 3. Non	
	chromogènes	7
3-3-1-1-4.	Groupe 4. Mycobactéries à croissance rapide : << Rapid Grower>>	
	7
3-3-1-2.		
	Morphologie.....	7
3-3-1-2-1.	Observation	
	Microscopique.....	7

3-3-1-2-2. Observation après culture des mycobactéries.....	9
3-3-2. Epidémiologies.....	14
3-3-3. Caractéristiques Cliniques et Diagnostic de la co-infection VIH/SIDA-MNT.....	14
3-3-3-1 Clinique.....	14
3-3-3-1-1 Atteinte pulmonaire	15
3-3-3-1-2. Atteinte ganglionnaire	18
3-3-3-1-3. Atteintes de la peau et des tissus mous.....	19
3-3-3-1-3-1. Infections cutanées.....	19
3-3-3-1-3-2. Atteintes ostéoarticulaires et tendineuses.....	19
3-3-3-1-4. Atteintes disséminées.....	20
3-3-3-1-4-1. Chez les patients non infectés par le VIH.....	20
3-3-3-1-4-2. Chez les patients infectés par le VIH.....	20
3-3-4. Mode de transmission	20
3-3-5. Techniques d’Isolement des Mycobactéries atypiques.....	22
3-3-5-1. Diagnostic bactériologique.....	25
3-3-5-2. Examen direct d’expectoration	25
3-3-5-3. Diagnostic à partir de la culture.....	28

3-3-5-4. Autres examens complémentaires.....	30
3-3-6- Traitement.....	31
3-3-6-1-Traitement curatif.....	31
3-3-6-2.-Traitement des mycobactéries à croissance rapide.....	33
3-3-6-3-Nouvelles molécules.....	33
3-3-6-4-Surveillance du traitement.....	34
3-3-6-5-Traitement préventif.....	34
4.- Méthodologie.....	35
4-1-Type d'étude.....	35
4-2.-Cadre et lieu d'étude.....	35
4-2-1. Description de CEREF0/SEREF0.....	35
4-2-2. Le Centre Hospitalier Universitaire (CHU) du Point-G.	36
4-3-4. Echantillonnage	37
4-3-1. La Population d'étude.....	37
4-3-2. Critères d'inclusion et de non inclusion.....	38
4-4. Matériels et Méthodes.....	38
4-4-1. Matériels.....	38

4-4-2. Méthodes de laboratoire.....	38
4-4-3. Traitement et Analyse des Données.....	40
4-4-4. Considérations éthiques et morales.....	40
4-5. Diagramme de GANTT.....	41
5. Résultats.....	4
2	
6. Commentaires et Discussions.....	50
6-1. Globalement	50
6-2. Individuellement	51
6-3. Limites de l'étude.....	51
7. Conclusion.....	5
2	
8. Recommandations.....	5
3	
9 Références Bibliographiques.....	54

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : <i>Mycobacterium sp.</i> observés en microscopie électronique.....	4
Figure 2 : <i>M. tuberculosis</i> (coloration de Ziehl-Neelsen).....	8
Figure 3 : <i>M. tuberculosis</i> (coloration de Dugommier).....	8
Figure 4 : Aspects des BAAR de <i>M. avium</i> après la coloration de Ziehl Neelsen	10
Figure 5 : Aspects des BAAR de <i>M. kansasii</i> après coloration de Ziehl Neelsen.....	11
Figure 6 : Colonies de <i>M. gordonae</i> sur milieu de Löwenstein Jensen.....	11
Figure 7 : Aspects des BAAR de <i>M. fortuitum</i> après coloration de Ziehl Neelsen et Colonies <i>M. fortuitum</i>	12
Figure 8 : distribution de l'ulcère de Buruli dans le monde.....	13
Figure 9 : Evolution du déficit CD4+ au cours de l'infection par le VIH/sida	15
Figure 10 : Scanner thoracique du même patient atteint de maladie caverneuse à MAC...	17
Figure 11 : Scanner thoracique d'un patient atteint de bronchectasies fibronodulaires liées à une infection à <i>M. avium</i>	18
Figure 12 : Milieux de cultures utilisés au laboratoire de tuberculose de SEREFO.....	29
Figure 13 : Diagramme de répartition des patients.....	42

Figure 14 : Répartition des patients en fonction de la tranche
d'âge.....**43**

Figure 15 : Répartition des patients infectés par les MNT en fonction du Sexe
.....**43**

Figure 16 : Répartition des patients infectés par les MNT en fonction du genre
et du statut
VIH.....
..**44**

Figure 17 : Répartition des patients infectés par les MNT en fonction de
l'identification des souches de
MNT.....**44**

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau I: Notation des résultats de l'examen direct

d'expectoration.....28

Tableau II: Liste des médicaments dits essentiels, leurs posologies, les fréquences de prise
effets secondaires

majeurs.....32

Tableau III: Répartition des Patients en Fonctions du Résultat de la Culture et
l'Identification des

Mycobactéries.....
.....42

Tableau IV: Récapitulatif des huit patients co-infectés par les MNT et le
VIH/SIDA.....49

1. Introduction

Les mycobactéries non tuberculeuses (MNT) sont des germes de l'environnement qui peuvent envahir un hôte et causer des infections pulmonaires, cutanées ou lymphatiques chez le sujet immunocompétent ou occasionner des infections disséminées chez le sujet immunodéprimé [1] [2].

Les MNT, en anglais appelées <<Non tuberculous mycobacteria (NTM)>>, ou *Mycobacteria others than tuberculosis* (MOTT), sont présentes dans l'eau, la terre, les aérosols, les plantes, mais ne sont pas des pathogènes obligatoires. Pendant longtemps la communauté scientifique, qui se consacrait plutôt à l'épidémie de la tuberculose, ne s'y est pas intéressée mais de nos jours, les MNT posent un réel problème de santé public. Ces mycobactéries étaient considérées comme des bactéries saprophytes et leurs pouvoirs pathogènes n'étaient pas reconnus. D'autre part, la reconnaissance de groupes particuliers à risque a fait accroître le niveau d'intérêt général pour les MNT.

Actuellement, il existe plus de 125 différents types de MNT pouvant provoquer des symptômes non spécifiques chez l'homme [3] ; les plus fréquentes sont :

- le Complexe *Mycobacterium avium* (MAC),
- *Mycobacterium gordonae*,
- *Mycobacterium fortuitum*,
- *Mycobacterium kansasii*,
- *Mycobacterium ulcerans*, etc...

La plupart de ces infections opportunistes sont causées par des organismes habituellement inoffensifs qui, chez un sujet non immunodéprimé ne provoquent pas de maladie [1]. Les manifestations cliniques peuvent être absentes mais lorsque les symptômes ou les signes se produisent il est difficile de les distinguer cliniquement et radiologiquement de ceux causés par les mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) [4].

Les infections à mycobactéries atypiques sont reconnues comme causes de maladie symptomatique dans les pays développés, le rôle des MNT dans les maladies pulmonaires ou systémiques en particulier chez les sujets immunodéprimés n'est pas bien décrit dans les pays en voie de développement. Ceci est largement attribuable à l'absence de moyens de diagnostic et d'identification de ces MNT dans nos pays puisque le moyen de diagnostic de la tuberculose le plus utilisé chez nous reste la microscopie par la présence de Bacilles Acido-Alcool-Résistants (BAAR) qui ne permet pas de faire cette distinction [5]. Seules la culture et les techniques d'identification (moléculaires et biochimiques) permettent d'identifier les MNT et le CMT.

Chez les sujets infectés par le VIH/SIDA, la plupart des infections à MNT surviennent lorsque les taux de CD4 sont bas surtout aux environs de 200 lymphocytes CD4+/mm³ [6].

Au Mali, beaucoup d'études ont été faites sur la co-infection VIH/TB, cependant il y a peu de données récentes sur la prévalence des MNT chez les patients VIH positifs. C'est devant l'importance de cette infection que nous avons décidé d'étudier la prévalence et les caractéristiques des mycobactéries atypiques chez les personnes vivant avec le VIH/SIDA à Bamako.

2. Objectifs

2.1. Objectif général

Etudier la prévalence et les caractéristiques des mycobactéries atypiques chez les personnes vivant avec le VIH/SIDA au Mali isolées au laboratoire SEREFO entre 2006 et 2013.

2.2. Objectifs spécifiques

- Identifier les mycobactéries atypiques chez les personnes vivant avec le VIH,
- Déterminer la prévalence des mycobactéries atypiques parmi les patients tuberculeux,
- Déterminer la prévalence des mycobactéries atypiques en fonction du type de VIH et des années,
- Décrire les caractéristiques socio-épidémiologiques et cliniques de la population d'étude.

3. Généralités

3-1. Définition

Les mycobactéries sont des bacilles responsables d'un grand nombre de maladies à localisation pulmonaire, ganglionnaire, cutanée ou généralisée. Parmi les mycobactéries, on retrouve principalement l'agent responsable de la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) et celui de la lèpre (*Mycobacterium leprae*).

Les mycobactéries atypiques désignent les mycobactéries non tuberculeuses, et sont des mycobactéries environnementales sans transmission interhumaine [7]. Elles forment un grand groupe de bacilles, moins agressifs pour l'homme que celui de la tuberculose, dont les manifestations, d'évolution habituellement progressive, sont variables et seront d'autant plus marquées que les défenses immunitaires de l'hôte seront réduites.

Ces mycobactéries sont de petits bacilles aérobies assez longs et fins, sans spores et sans capsules. Elles appartiennent au groupe des Actinobactéries qui sont des bactéries à Gram positif (Gram+), avec un pourcentage en bases nucléiques G+C (guanidine et cytosine) élevé [8].

Chez les mycobactéries il est compris entre 61 et 71%. Leur paroi présente une structure particulière, riche en acides mycoliques (cires) qui leur confère une résistance à l'action combinée d'acide dilué et d'alcool (acido-alcool-résistants). Cette paroi explique en partie la grande résistance des MNT aux macrophages, aux UV et au chlore [9].

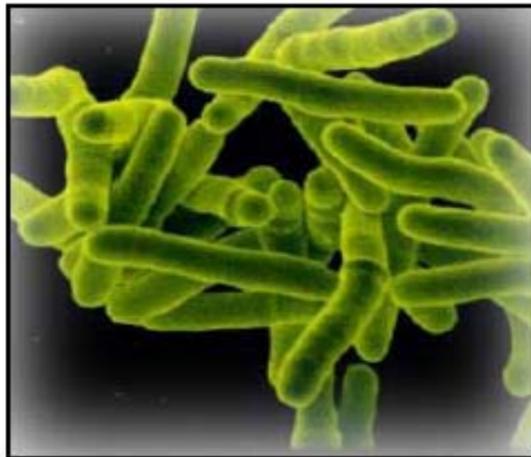


Figure 1 : *Mycobacterium sp.* observés en microscopie électronique [9].

3-2. Historique des mycobactéries atypiques

Le germe *Mycobacterium* est le seul représentant de la famille des mycobacteriaceae de l'ordre des Actinomycetales[10]. Leur découverte est récente puisque c'est, en 1920 que Calmette qui, affirma l'existence de mycobactéries « atypiques », puisque différentes de *M. tuberculosis* et de *M. bovis*. . En 1953, d'autres mycobactéries acido-alcool-résistantes, appelées bacilles «paratuberculeux» ont été mis en évidence dans les milieux les plus divers (eau, terre, fumier, beurre ...); Pollak et Buhler confirment le pouvoir pathogène occasionnel de certaines espèces de mycobactéries et isolent *Mycobacterium kansasii* sur des cadavres humains, ce qui relance les recherches sur les mycobactéries atypiques responsables de diverses mycobactérioses humaines et animales [11].

En 1954, Timpe et Runyon ont prouvé de manière définitive que les mycobactéries atypiques avaient un pouvoir pathogène [12].

En 1959, Runyon a établi une classification basée sur la pigmentation des colonies et la vitesse de croissance des mycobactéries atypiques.

Ces mycobactéries atypiques se distinguent, en effet, des bacilles de la tuberculose par leurs caractères biochimiques, culturels, morphologiques et par leur résistance aux antibiotiques antituberculeux classiques. Elles ont le plus souvent une résistance à l'acide para-amino-salicylique (PAS) et ont une activité catalytique thermostable[13].

De nombreuses espèces de mycobactéries non tuberculeuses (MNT) ont été décrites depuis la classification de Runyon et très régulièrement de nouvelles espèces sont découvertes.

En 1997, environ 50 espèces de MNT avaient été identifiées. En 2007, lors de la publication des dernières recommandations de l'ATS/IDSA (American Thoracic Society / l'Infectious Disease Society of America) plus de 125 espèces avaient été décrites [14].

Cette augmentation est essentiellement liée à l'amélioration des techniques d'identification, en particulier la biologie moléculaire et le séquençage de l'ARN 16s. Ces méthodes ont permis d'identifier de réelles nouvelles espèces, mais aussi, de distinguer simplement certaines espèces proches. Par exemple, *Mycobacterium triplex*, *Mycobacterium lentiflavum*, *Mycobacterium celatum* ou *Mycobacterium conspicuum* sont classiquement identifiées comme *Mycobacterium avium complex* (MAC).

3-3. Epidémiologie des Mycobactéries atypiques

Selon les dernières recommandations de prise en charge, des infections à mycobactéries atypiques par la société Américaine des pathologies thoraciques (ATS/IDSA) en 2007, il y avait une incidence de 1–1,8 cas pour 100 000 habitants par an [14] (Estimation Américaine). Les infections à MNT ne font pas l'objet de déclaration obligatoire et l'estimation de l'incidence est, en fait, basée sur le nombre de cas rapportés après isolement de ces mycobactéries.

De manière globale, l'incidence de l'isolement des MNT augmente chaque année, même s'il reste difficile de savoir si cela est associé à une augmentation du nombre de patients infectés à MNT ou simplement à une amélioration des techniques d'isolement des MNT [15].

L'épidémiologie des MNT diffère d'un pays à l'autre et d'un continent à l'autre puisque les critères de définition diffèrent d'une société à une autre.

Ainsi au Mali en 2012, Maiga *et al.* [16] avaient montré que 8% des patients tuberculeux avaient soit une contamination à MNT ou étaient infectés par les MNT au centre de recherche et de formation sur le VIH et la TB. Tous ces cas ne répondaient pas aux critères de définition des MNT selon l'ATS/IDSA.

3-3-1. Classification et Morphologies

3-3-1-1. Classification :

La classification de Runyon (en) est la plus utilisée. Elle permet de classer les espèces les plus fréquentes :

3-3-1-1-1. Groupe 1, Les Photo chromogènes :

Ce sont des MNT avec des colonies blanchâtres dans l'obscurité mais devenant pigmentées (jaunes ou rouges) lorsqu'on les expose quelques heures à la lumière. Il s'agit entre autre de :

- *Mycobacterium kansasii* isolé surtout dans le pus de lymphadénites, mais rarement dans des syndromes pulmonaires pseudo tuberculeux.
- *Mycobacterium marinum* est responsable de granulomes cutanés chroniques mais bénins.

La contamination survient au cours du nettoyage des aquariums.

3-3-1-1-2. Groupe 2. Les Scotochromogènes :

Ce sont des MNT dont les colonies sont pigmentées d'office, sans l'influence de la lumière :

- *Mycobacterium gordonae*,
- *Mycobacterium scrofulaceum* = *Mycobacterium marianum* rencontré surtout dans les adénites cervicales chez les enfants.
- *Mycobacterium aquae* est un saprophyte (tartre des robinets).

- *Mycobacterium xenopi* est un saprophyte assez répandu, il donne des colonies de couleur jaune, et lisses.

3-3-1-1-3. Groupe 3. Non chromogènes :

Ces MNT ressemblent le plus au *Mycobacterium tuberculosis* :

- *Mycobacterium avium* est l'agent de la tuberculose aviaire. Il pousse mieux à 42 °C.

- *Mycobacterium intracellulare* ou bacille de Battey a été isolé de syndromes pulmonaires pseudo-tuberculeux en Géorgie, (Etats-Unis) au sanatorium de Battey

Ces deux espèces formant le complexe *Mycobacterium avium* causent rarement des tuberculoses pulmonaires graves. L'augmentation des fumées et poussières peut contribuer aussi puisqu'il y'a une fréquence plus grande des mycobactéries atypiques chez les mineurs .

-*Mycobacterium ulcerans* l'agent pathogène de l'ulcère de Buruli est rencontré dans des ulcères cutanés chroniques. Il est cultivable entre 25 et 30 °C.

3-3-1-1-4. Groupe 4. Mycobactéries à croissance rapide : << Rapid Grower>>

Ce sont des MNT qui poussent en moins d'une semaine tout au moins lors des repiquages; la première culture pouvant prendre 2 à 3 semaines :

- *Mycobacterium smegmatis* est un commensal inoffensif pouvant causer des erreurs de diagnostic dans la tuberculose génito-urinaire,

- *Mycobacterium fortuitum*,

- *Mycobacterium abscessus*.

Les deux espèces se rencontrent parfois dans les pus d'abcès chroniques ou subaigus après des injections [17].

3-3-1-2. Morphologie

3-3-1-2-1. Observation Microscopique

Les mycobactéries sont des bacilles droits ou légèrement incurvés, de 0,2 à 0,6 µm de diamètre sur 1,0 à 10,0 µm de longueur, présentant parfois des renflements ou des ramifications, formant occasionnellement des filaments qui se fragmentent très facilement en éléments bacillaires. Elles sont immobiles et non sporulées, ces bactéries sont difficilement colorées par la coloration de Gram mais sont considérées comme bacilles à Gram positif.

En fait, la paroi des mycobactéries possède une structure plus complexe que la paroi des bactéries à Gram positif et, sur un frottis coloré par la technique de Gram, les mycobactéries apparaissent souvent comme non colorées. Leur mise en évidence repose sur leur propriété particulière d'acido-alcool-résistance, c'est pourquoi on les appelle des BAAR (Bacilles Acido-Alcool Résistants) [18].

Deux colorations sont utilisées pour les visualiser : la coloration de Ziehl-Neelsen (et ses variantes) et la coloration à l'Auramine (Dugommier).

Dans la technique de Ziehl-Neelsen, la fuchsine colore en rouge les bacilles qui conservent cette coloration après traitement par l'acide nitrique (ou sulfurique) dilué et par l'alcool. Le fond de la préparation est ensuite coloré au bleu de méthylène.

Les bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) apparaissent rouges sur fond bleu. La lecture se fait à l'objectif (X100) avec huile à immersion. Elle est longue car le champ observé est petit.

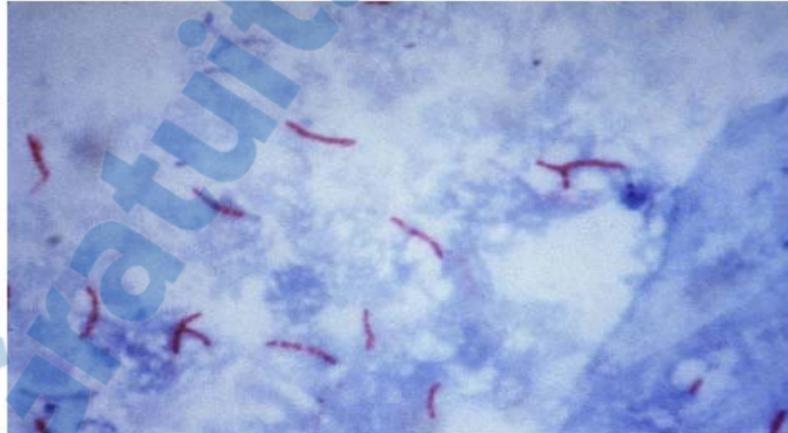


Figure 2 : *M. tuberculosis* (coloration de Ziehl-Neelsen).

L'Auramine se fixe sur le bacille et le rend fluorescent, après traitement à l'acide-alcool et contre coloration du fond de la préparation. Celle-ci est examinée au microscope en fluorescence à l'objectif (X25 ou X40) sans huile à immersion. La lame est explorée plus rapidement, le champ observé étant plus grand qu'à l'immersion. Les BAAR apparaissent fluorescents, brillants sur fond noir de la préparation. Ils sont dénombrés par champ microscopique (diagnostic positif si au moins un BAAR pour 10 champs observés).



Figure 3 : *M. tuberculosis* (coloration de Dugommier) [18].

3-3-1-2-2. Observation après culture des mycobactéries

Les mycobactéries atypiques ne sont cultivées que difficilement *in vitro* et peuvent être confondues avec les bacilles tuberculeux. Les MNT poussent à 35–37⁰C sur milieux spécifiques, mais leur température optimale varie : 30⁰C pour *M. malmoense*, *M. abscessus*, 42⁰C pour *M. xenopi*. Certaines mycobactéries comme *M. marinum* et *M. haemophilum* poussent préférentiellement à 30⁰C, d'où la nécessité d'incuber tout prélèvement d'origine cutanée aux deux températures de 30 et 37⁰C. La croissance de *M. ulcerans* et *M. genavense*, difficile et très lente (de six semaines à plusieurs mois), nécessite la présence de facteurs de croissance particuliers.

Elles peuvent infecter l'homme ou d'autres mammifères.

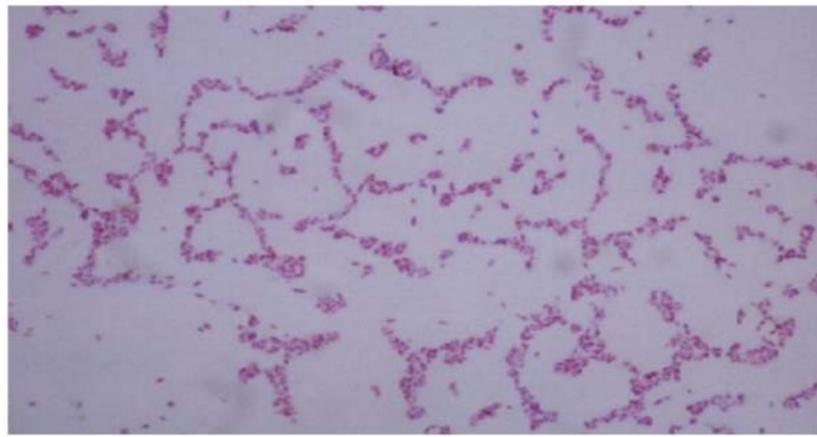
Les espèces les plus fréquentes sont :

➤ ***Mycobacterium avium-intracellulare* (MAC)**

Ce complexe est retrouvé dans l'environnement, l'eau, le sol mais aussi dans l'air (aérosols) ainsi que dans l'environnement hospitalier ou domestique. Il est composé de deux espèces distinctes, mais suffisamment proches pour être groupées dans *M. avium* complexe. *M. avium* est responsable de la tuberculose aviaire et des infections surtout ganglionnaires chez des mammifères domestiques (porcs). Les oiseaux sauvages ou domestiques sont contaminables aussi par *M. avium*. Avant l'apparition du sida, MAC était isolé au décours d'infection pulmonaire chez l'adulte ou d'adénite ganglionnaire chez l'enfant. *M. avium* est la mycobactérie la plus fréquemment isolée chez les personnes vivantes avec le VIH à un stade avancé avec un taux de lymphocytes CD4 abaissé en dessous de 100 par µl.

Le traitement est difficile en raison de la résistance des mycobactéries et de sa capacité à muter en présence des macrolides. *M. intracellulare* est plutôt responsable d'infections pulmonaire ou d'adénites que d'infections chez les personnes vivant avec le VIH SIDA.

A l'espèce *M. avium*, s'est associée une espèce proche : *M. paratuberculosis* qui devient la sous espèce de *M. avium subsp paratuberculosis* et une autre sous espèce *M. avium subsp silvaticum* est retrouvée chez les animaux.



M. avium (coccoïdes)

Figure 4: Aspects des BAAR de *M. avium* après la coloration de Ziehl Neelsen. Mireille Dosso[12].

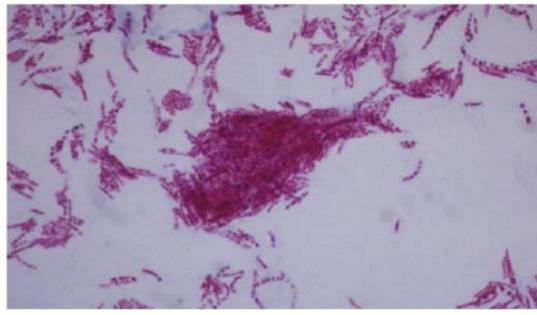
➤ *Mycobacterium xenopi*

C'est une mycobactérie plus fréquemment rencontrée dans les infections pulmonaires en France, et causant des infections disséminées plus principalement chez les personnes vivant avec le VIH. Elle est fréquente dans les atteintes osseuses ou articulaires, et aussi retrouvée dans l'eau potable et l'eau de réactif. Sa poussée est généralement lente sur des milieux récents. Sur milieux solides, cette espèce scotochromogène prend l'aspect de colonies fines, jaunes, rondes. Il n'existe pas de traitement standard [19].

➤ *Mycobacterium kansasii*

Cette espèce est retrouvée dans l'eau environnementale, domestique et hospitalière et en pathologie humaine. Les infections sont majoritairement pulmonaires, même si d'autres localisations ont été décrites. L'infection pulmonaire est observée chez les patients avec des facteurs favorisants : silicose, ancienne tuberculose, infection par le VIH.

Sur milieux solides, elle donne des colonies d'abord crèmes, rondes, lisses et brillantes qui deviennent jaune-orangées à la lumière. L'aspect microscopique montre des bacilles assez larges, longs, avec des granulations en échelles. C'est une des rares mycobactéries non tuberculeuses sur laquelle les antituberculeux de première ligne sont actifs.



M. Kansassii (épais et zèbré)

Figure 5 : Colonies de *M.Kansassii* sur milieu de Löwenstein Jensen. Mireille Dosso [12]

➤ *Mycobacterium gordonae* :

Cette espèce présente dans l'environnement est retrouvée dans des prélèvements pluri microbiens chez l'être humain. Il s'agit très souvent de colonisation sans incidence pathogène.

Elle est responsable de contamination de l'eau potable, elle donne aussi des colonies scotochromogènes, rondes, jaune-orangées, lisses, brillantes d'aspect large au microscope [20].



M. gordonae

Figure 6 : Colonies de *M. gordonae* sur milieu de Löwenstein Jensen. Mireille Dosso [12]

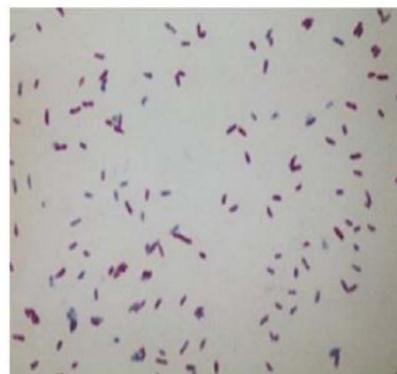
➤ ***Mycobacterium fortuitum* complexe**

Ces espèces sont présentes dans l'environnement. Elles sont fréquemment isolées dans les eaux domestiques et hospitalières et sont retrouvées à l'état commensal chez l'homme. Ce sont des mycobactéries à croissance rapide les plus fréquentes, incluant les espèces suivantes :

- a. *M.fortuitum* ;
- b. *M.peregrinum*,
- c. *M.chelonae*,
- d. *M.abcessus* et *M.chelonae-like*. Leur isolement d'un prélèvement pluri microbien n'est pas rare. Elles sont retrouvées dans des situations iatrogènes : pose de cathéters, prothèses cardiaques, après mésothérapie ou lors de dialyse péritonéale. Ces mycobactéries sont naturellement résistantes aux antituberculeux et à des nombreux antibiotiques.



M. fortuitum



Espèce à croissance rapide

Figure 7 : Aspects des BAAR de *M.fortuitum* après coloration de Ziehl Neelsen et Colonies *M.fortuitum* sur milieu. Mireille Dosso [12].

➤ ***Mycobacterium ulcerans*:**

L'ulcère de Buruli, dû à *Mycobacterium ulcerans*, est en grande partie un problème touchant les populations pauvres des zones rurales isolées et une source importante de souffrances. C'est la troisième infection mycobactérienne la plus courante après la tuberculose et la lèpre. L'OMS a commencé à s'occuper de cette maladie, jusque-là négligée, en 1998 [21].

En mai 2004, la Cinquante-septième Assemblée Mondiale de la Santé a adopté une résolution sur l'ulcère de Buruli, appelant à intensifier les recherches sur les outils de diagnostic, de traitement et de prévention de cette maladie[22].

L'ulcère de Buruli fait partie du groupe des maladies infectieuses que l'on classe dans les maladies tropicales négligées.

En 1948, Mac Callum *et al.* ont été les premiers à décrire *M. ulcerans* en Australie [23].

Le nom d'« ulcère de Buruli » provient de celui d'un comté de l'Ouganda (désormais appelé Nakasongola), où l'on a décrit un grand nombre de cas dans les années 1960.

La présence de cette affection a été signalée ou suspectée dans plus de 33 pays [24], situés principalement dans les régions tropicales et subtropicales, et le nombre des cas notifiés est en augmentation.

L'Afrique semble être la région la plus touchée, tandis que l'on trouve d'autres foyers importants en Australie, en Guyane française au Pérou et en Papouasie-Nouvelle-Guinée [25][26].

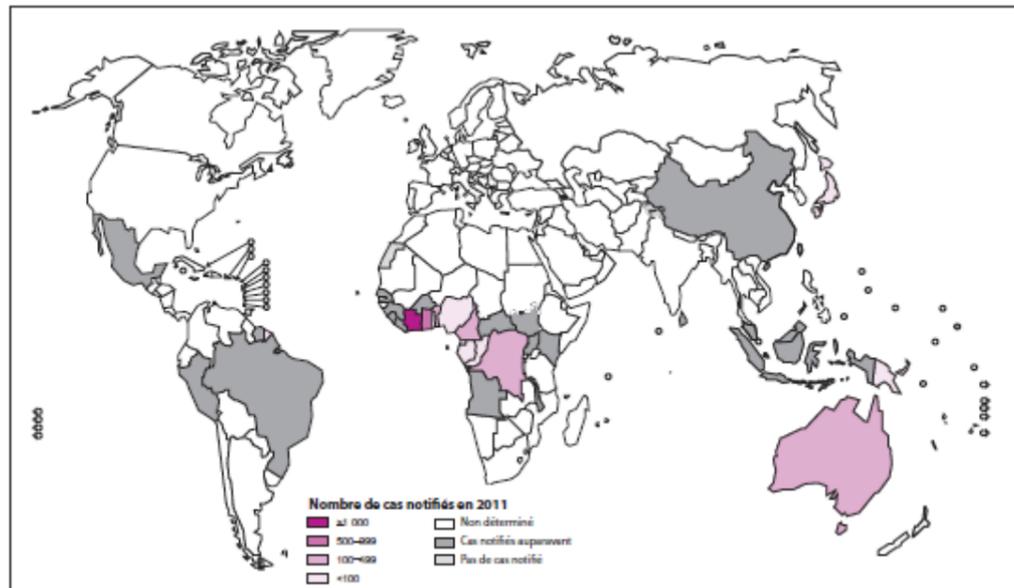


Figure-8 : Distribution de l'ulcère de Buruli dans le monde [27].

La co-infection par l'ulcère de Buruli et le VIH est un domaine émergent et elle complique la prise en charge clinique.

Le VIH affaiblit le système immunitaire, tend à rendre l'évolution de l'ulcère de Buruli plus agressive et pourrait peut-être affecter la réaction au traitement antibiotique. Les patients co-infectés sont souvent des adultes (> 15 ans) présentant de multiples foyers de lésions et une ostéomyélite.

En raison des interactions entre la rifampicine et certains ARV, la composante INNTI du schéma thérapeutique doit être changée en prescrivant EFV au lieu de NVP et, si l'on utilise

des inhibiteurs de la protéase, les lignes directrices pour la tuberculose/VIH doivent être consultées pour y trouver la prise en charge proposée[28].

3-3-2. Epidémiologies

Avant l'apparition du SIDA, les mycobactérioses à mycobactéries atypiques étaient considérées comme des maladies rares. Sur l'ensemble des cas suspects de tuberculoses, 5 à 10% pouvaient être attribué aux mycobactéries atypiques.

Mais très rapidement, après la description des premiers cas de SIDA, par Gottlieb et *al.* des infections mycobactériennes ont été reconnues chez des patients au stade final de la maladie ou à l'autopsie [29].

De nos jours dans certaines régions des Etats-Unis, les infections à mycobactéries atypiques sont aussi fréquentes que la tuberculose. La fréquence des infections à MNT chez les personnes vivant avec le VIH SIDA est très variable d'un auteur à l'autre.

Elle varie entre moins de 10% et plus de 50% des patients vivant avec le VIH SIDA.

Ces fréquences dépendent du moment, où l'infection à VIH, et la mycobactériose sont décelées [30].

Les mycobactérioses à mycobactéries atypiques se rencontrent essentiellement dans les pays en voie de développement ou chez les patients originaires de ces pays. Mais c'est la tuberculose qui constitue l'infection mycobactérienne prédominante aux Etats-Unis [2].

En 2012, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), la prévalence et l'incidence de la tuberculose au Mali ont été respectivement de 60 pour 100 000 habitants. Les seules prévalences des infections aux MNT au Mali, restent seules de Maiga et *al.* en 2012 avec 12%.

3-3-3. Caractéristiques Cliniques et Diagnostic de la co-infection VIH/SIDA-Mycobactériose

3-3-3-1 Clinique

Bien que non spécifique d'une infection mycobactérienne, la fièvre, les malaises, la perte de poids, et la diarrhée constituent les symptômes les plus fréquemment observés chez les personnes vivant avec le VIH/SIDA, atteints de mycobactérioses à mycobactéries atypiques[31]. Ces symptômes précèdent en général de quelques mois avant la mise en évidence de la mycobactériose.

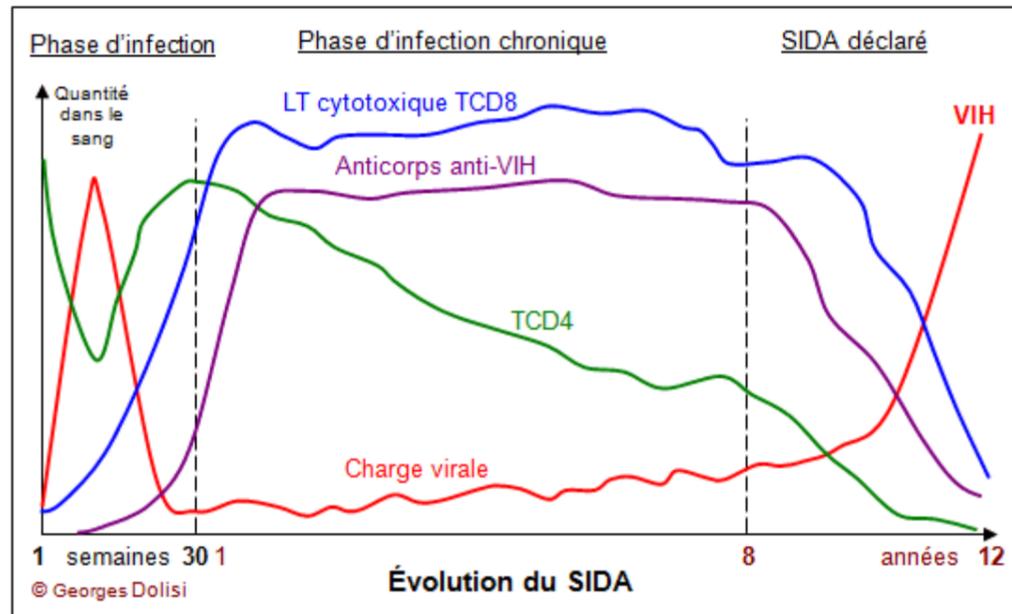


Figure 9: Evolution du déficit CD4+ au cours de l'infection par le VIH/sida[32]. Consulté le 28-Fevrier-2014.

Plusieurs études ont montré que les mycobactérioses apparaissent pendant la phase SIDA. Les mycobactéries atypiques chez les personnes vivant avec le VIH/SIDA se présentent le plus souvent sous forme disséminée.

La mise en évidence de ces mycobactéries dans divers produits pathologiques (liquides, tissus) constitue le diagnostic spécifique de ces formes disséminées par l'absence de signes cliniques apparents.

Les MNT sont responsables d'infections localisées ou disséminées. Elles atteignent principalement les poumons, les ganglions, la peau, les tissus mous.

3-3-3-1-1 Atteinte pulmonaire

L'atteinte pulmonaire survient habituellement sur des pathologies thoraciques prédisposantes : séquelles de tuberculose et de pneumoconiose, notamment silicose ; mucoviscidose au cours de laquelle la prévalence de MNT est de 4% en Europe et 20% aux États-Unis [1].

Les anomalies de la paroi thoracique ; dilatations des bronches (DDB); les patients ayant une DDB peuvent être colonisés ou infectés à MNT et certaines MNT dont MAC et *M. abscessus* peuvent provoquer le développement de DDB [33][34].

L'infection pulmonaire peut également être favorisée par une affection générale : diabète, éthylisme chronique, gastrectomie, hémopathies, greffés, traitement corticoïde ou immunosuppresseur dont les antagonistes du TNF infection VIH.

L'augmentation d'incidence des MNT est peut être expliquée également par l'amélioration des techniques de diagnostic au laboratoire, ainsi que par l'augmentation de l'exposition à certaines MNT dont MAC par l'intermédiaire d'aérosols (utilisation des douches, développement des thalassothérapies. . .)

Les présentations cliniques sont diverses :

- la maladie pulmonaire cavitaire atteint surtout les hommes sur terrain de tabagisme ou d'alcoolisme et de pathologie pulmonaire sous-jacente.

Les signes cliniques sont variables, non spécifiques et peuvent être liés à la pathologie pulmonaire associée : toux chronique, expectoration, asthénie et, plus rarement, malaises, dyspnée, hémoptysie, amaigrissement. La fièvre est souvent absente. L'hémoptysie est d'apparition tardive et de mauvais pronostic.

Les signes radiographiques sont des cavités similaires à celles retrouvées dans la tuberculose, siégeant dans les lobes supérieurs d'Oscar Wilde[33].

Il avait été suggéré que cette infection apparaissait en raison de la suppression volontaire de la toux et de la prolifération secondaire des germes dans le lobe moyen et la lingula. Les principaux signes cliniques sont la toux et l'expectoration et plus tardivement l'altération de l'état général et les hémoptysies. De récentes études, avec scanner de haute résolution, ont montré des bronchectasies et de multiples nodules de taille inférieure à 5mm diffus chez 90% des patients infectés à MAC [33].

Les espèces les plus fréquemment responsables sont MAC ainsi que *M. abscessus* et *M. kansasii*. L'augmentation des cas de bronchectasie à MNT est probablement liée à un meilleur dépistage radiologique et bactériologique.

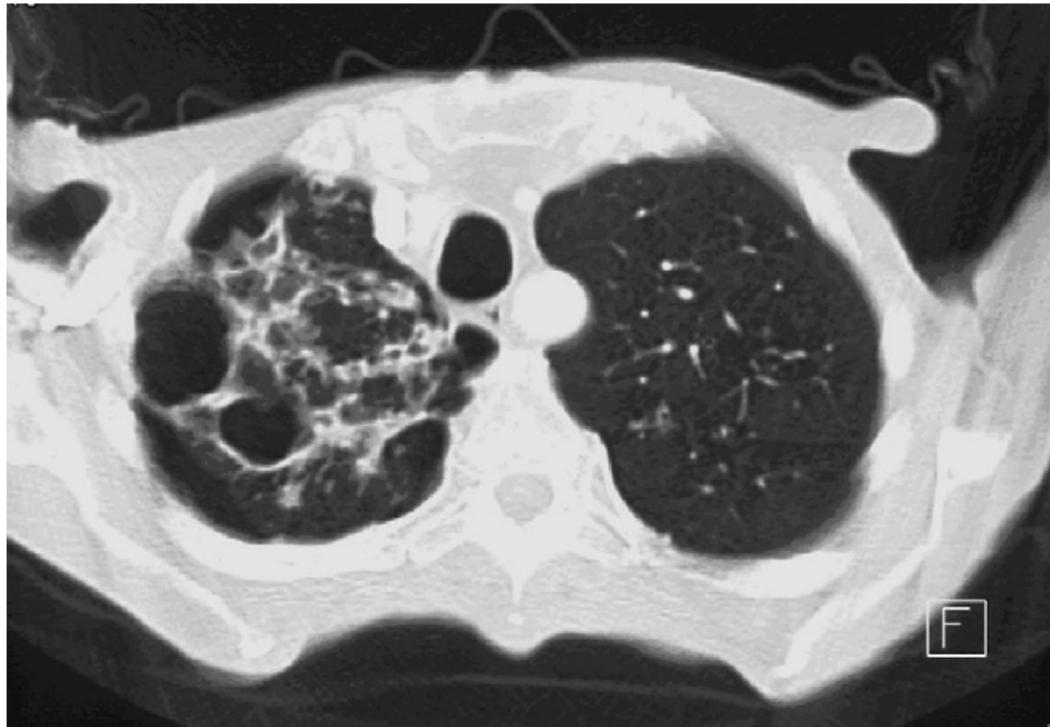


Figure 10 : Scanner thoracique du même patient atteint de maladie caverneuse à MAC [34].

- la pneumonie d'hypersensibilité par inhalation de MAC a été récemment décrite chez des patients exposés à des aérosols ou en contact avec des douches et des bains contaminés : la littérature en dénombre environ une cinquantaine de cas. Les patients sont généralement plus jeunes que la moyenne et non-fumeurs. La dyspnée, la toux et la fièvre sont les symptômes les plus fréquents, suivis par l'hypoxémie, puis la détresse respiratoire nécessitant parfois l'hospitalisation en soins intensifs

Le scanner thoracique montre des nodules diffus et/ou des opacités en verre dépoli. L'aspect histologique peut évoquer le diagnostic l'isolement de MAC dans les prélèvements respiratoires et dans l'eau contaminée confirme le diagnostic.

Le traitement est discuté et repose toujours sur l'arrêt de l'exposition au pathogène, qui peut parfois être suffisant à lui seul, sur de courtes antibiothérapies (d'une durée de trois à six mois) et sur les corticoïdes à la posologie de 1 à 2mg/kg par jour d'équivalent prednisone à dose progressivement décroissante sur une durée totale d'un à deux mois.

La maladie peut aboutir à l'insuffisance respiratoire et au décès ;

- les bronchectasies fibronodulaires réalisent une atteinte progressive à l'origine d'un syndrome réticulonodulaire et de bronchectasies chez des patients sans maladie respiratoire sous-jacente, en particulier chez des femmes d'âge supérieur à 60 ans, non fumeuses.

Elles conduisent parfois à un tableau de défaillance respiratoire, appelé syndrome de Lady Windermere, selon le personnage d'une œuvre

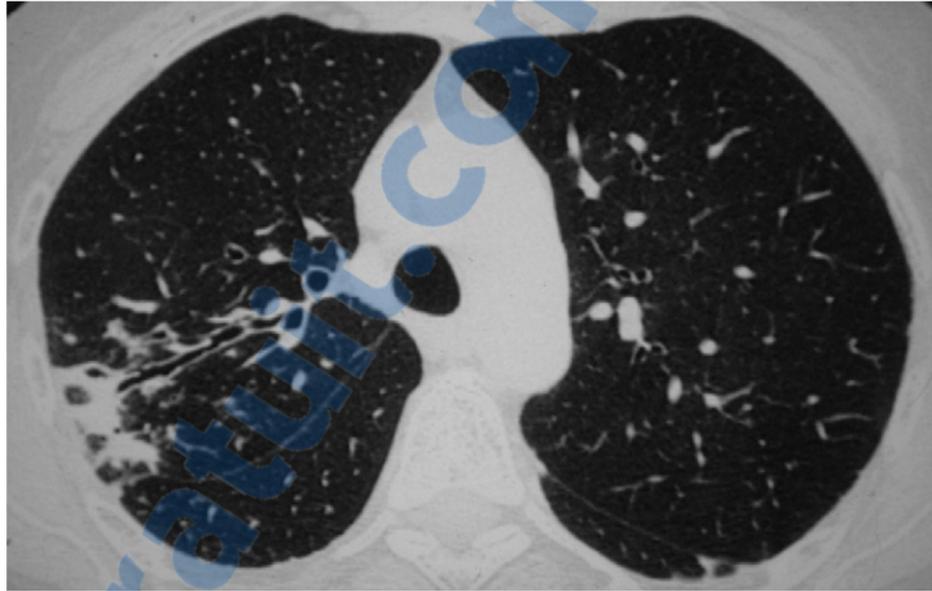


Figure 11: Scanner thoracique d'un patient atteint de bronchectasies fibronodulaires liées à une infection à *M. avium* (Pr Brauner, service de radiologie et Pr Valeyre, service de pneumologie, Hôpital Avicenne Paris/France)[34].

3-3-3 -1-2. Atteinte ganglionnaire

Les infections ganglionnaires à MNT sont retrouvées principalement chez les enfants âgés de 16 mois à dix ans. Parmi les adénites mycobactériennes de l'enfant, 90% sont dues à des mycobactéries atypiques et 10% au bacille de Koch, ce rapport étant inversé chez l'adulte. En l'absence d'infection par le VIH, les adénites à MNT sont rares chez l'adulte, observées en situations de déficit de l'immunité cellulaire.

De localisation cervicale, sous-mandibulaire, sous-maxillaire ou pré auriculaires, elles sont généralement unilatérales, indolores et rarement associées à des signes systémiques. Leur porte d'entrée est probablement une lésion muqueuse de la sphère oropharyngée, une éruption dentaire ou une infection ORL (Oto-rhino-laryngologie).

La croissance du ganglion prend quelques semaines, évoluant vers une infection chronique locale avec fistulisation ou cicatrisation et résolution spontanée.

Le diagnostic positif repose sur la biopsie ganglionnaire avec étude anatomopathologique et microbiologique (la sensibilité de la ponction n'étant pas satisfaisante).

L'examen histologique montre un granulome caséux avec ou sans présence de bacilles acido-alcoolrésistants. L'IDR (intradermoréaction) à la tuberculine est généralement négative.

Le principal diagnostic différentiel est la tuberculose ganglionnaire, évoquée devant des anomalies de la radiographie pulmonaire, un contage tuberculeux, une réaction tuberculique positive.

Les espèces majoritairement en cause sont le complexe MAC, *M. scrofulaceum* aux États-Unis et en Australie, *M. malmoense* en Europe du Nord et *M. haemophilum* qui semble émerger aux Pays-Bas [34].

3-3-3-1-3. Atteintes de la peau et des tissus mous

3-3-3-1-3-1. Infections cutanées

Les infections à MNT de la peau peuvent survenir chez les sujets en bonne santé, dont une plaie a été contaminée par de l'eau de piscine ou d'aquarium. Elles sont causées par *M. marinum* ou par des mycobactéries à croissance rapide. Le délai médian de diagnostic est de sept mois. Les zones atteintes sont surtout les coudes, les genoux et la face dorsale des mains et des pieds, réalisant des papules ou des nodules violacés pouvant s'ulcérer. La nécrose et la suppuration peuvent gagner les tissus profonds, les tendons ou les os et nécessiter un traitement chirurgical. La réaction tuberculique est souvent positive et l'histoire clinique évocatrice.

Le diagnostic est fait sur l'examen microbiologique de la biopsie cutanée, ainsi que son aspect histologique qui montre un granulome tuberculoïde

3-3-3-1-3-2. Atteintes ostéoarticulaires et tendineuses

Les manifestations ostéoarticulaires sont plus rares que les atteintes précédentes. Elles peuvent survenir sur un terrain d'immunodépression thérapeutique, tel que rhumatisme inflammatoire, lupus érythémateux disséminé.

Mais aussi au décours de procédures rhumatologiques (infiltration, mésothérapie. . .) ou chirurgicales (arthroscopies, nucléotomies, ...) utilisant des solutions supposées « antiseptiques » ou de l'eau supposée stérile, en fait contaminées par des MNT, comme dans le cas d'une épidémie de spondylodiscites à *M. xenopi* contractées après nucléotomie percutanée dans un établissement de santé

Les localisations les plus fréquentes sont des arthrites, ténosynovites, bursites, ostéites et spondylodiscites.

Leur diagnostic est difficile en raison de leur caractère torpide insidieux, caractérisé par l'absence de signes cliniques bruyants, de signes systémiques avec rareté de l'inflammation locale, alors que l'atteinte radiologique peut montrer une destruction importante.

Ces affections peuvent mimer une pathologie inflammatoire rhumatismale, notamment une sarcoïdose, une polyarthrite rhumatoïde, un rhumatisme psoriasique.

Le diagnostic positif se fait grâce à des prélèvements de liquide articulaire, en prévenant le microbiologiste de la recherche spécifique de mycobactéries et en complétant par une analyse histologique à la recherche d'un granulome sans nécrose caséuse (cependant inconstant).

Les principales MNT responsables des atteintes rhumatologiques sont *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. avium intracellulare*, *M. chelonae*, *M. terrae*.

3-3-3-1-4. Atteintes disséminées

3-3-3-1-4-1. Chez les patients non infectés par le VIH

Chez les patients non infectés par le VIH, les infections disséminées sont généralement dues à MAC, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. scrofulaceum*, *M. genavense*. Elles surviennent surtout après transplantations d'organe solide, greffe de moelle osseuse, sous thérapie immunosuppressive, elles se manifestent habituellement par une fièvre prolongée avec altération de l'état général et sueurs.

3-3-3-1-4-2. Chez les patients infectés par le VIH

Chez les patients infectés par le VIH, des infections disséminées, principalement dues à *M. avium*, sont observées à des taux de CD4 habituellement inférieurs à 50 copies par millimètre cube.

Les manifestations cliniques sont variées mais, par ordre de fréquence, il s'agit de :

- fièvre prolongée (80 %),
- sueurs nocturnes (35 %),
- amaigrissement (25 %), ainsi que de douleur abdominale, diarrhée, hépatosplénomégalie, adénopathies, l'atteinte pulmonaire étant rare.

Le *M. kansasii* peut être à l'origine d'atteintes pulmonaires sans infection disséminée, son pouvoir pathogène supérieur à celui de MAC permet des infections chez des patients ayant un niveau d'immunodépression moindre

M. xenopi peut également être à l'origine d'infections pulmonaires isolées. Les MNT sont alors fréquemment isolées du sang, de la moelle osseuse, des sécrétions respiratoires et de biopsies ganglionnaires, hépatiques ou autres [34].

3-3-4. Mode de transmission

Les MNT peuvent infecter les humains et les animaux par différentes voies d'exposition qui incluent l'ingestion, l'inhalation et l'exposition par contact ou post-traumatique.

Dans la plupart des cas l'eau a été impliquée comme principale voie possible de transmission humaine.

En effet, les MNT sont isolées de l'eau potable, des systèmes de distribution d'eau chaude, des machines à glace, des fontaines, les piscines et des aquariums. Elles sont également isolées parfois en grand nombre dans les écosystèmes aquatiques comme les étangs, lacs, rivières et marais.

Les humains sont donc couramment exposés à ces bactéries par contact avec l'eau.

Les poissons et mollusques pas ou peu cuits et les produits laitiers sont considérés comme des voies importantes de contamination. En effet les animaux filtreurs (poissons et mollusques) concentrent les MNT présents dans les sédiments ou l'eau et les rejettent dans l'environnement ou les transmettent à leurs prédateurs[35].

L'eau traitée est également une source importante et les réseaux de distribution d'eau potable et d'eau chaude constituent des réservoirs les plus proches de l'homme dans les pays industrialisés à prédominance urbaine.

En effet, la résistance des MNT aux UV et aux traitements chimiques comme la chloration facilite la colonisation des réseaux de distribution d'eau potable [36].

Dans les eaux traitées, ces bactéries oligotrophes peuvent former des biofilms en absence de compétiteurs.

Les aérosols contaminés créés par les douches chaudes constituent également une source importante de MNT.

Selon la législation européenne (98/83/CE) l'eau destinée à la consommation humaine ne devrait contenir aucun pathogène à des densités pouvant affecter la santé humaine. Cependant ces normes ne prennent pas en compte les pathogènes émergents tels que les MNT.

Les MNT colonisant les réseaux de distribution, proviennent des eaux de surface et souterraines utilisées pour le captage par les usines de traitement. Parce que ces eaux sont les milieux de vie naturels des MNT, les sédiments des rivières et l'interface air/eau peuvent constituer des réservoirs. Ces milieux aquatiques reçoivent diverses pollutions diffuses et ponctuelles, incluant les rejets des systèmes séparatifs et de systèmes unitaires des eaux de pluie et des eaux usées ainsi les rejets de temps de pluie constituent une source majeure de MNT dans les eaux urbaines utilisées pour la production d'eau potable ou pour les activités de récréation.

Pickup et *al.* ont rapporté que la présence de MNT dans les rivières est fortement influencée par les rejets de temps de pluie et corrélée avec l'augmentation des indicateurs fécaux. De plus les pluies drainent le bassin versant, lessivant des sols naturellement colonisés par les MNT ou contaminés par l'épandage de lisier ou de boues activées. L'homme peut alors se

contaminer par contact avec une eau contaminée ou par inhalation d'aérosols que ce soit dans les activités de récréation ou dans des activités de lavage.

Les animaux sauvages contribuent aussi à la persistance de MNT dans l'environnement et aux cycles de réinfection [37]. Les mammifères, oiseaux, poissons, invertébrés et protozoaires peuvent servir d'hôtes et de vecteurs[38].

Certaines MNT ont été montrées comme vivant à l'intérieur d'amibes et de ciliés. Cette association avec les protozoaires peut constituer une stratégie de survie pour les MNT et peut augmenter leur virulence[39].

M. marinum est un pathogène avéré des poissons qui peut aussi infecter les humains par la peau abrasée[40].

Les espèces du complexe *M. avium* peuvent infecter divers mammifères et oiseaux et constituent une cause significative de maladies chez l'homme. Bien que soupçonnée d'exister, la transmission de l'animal vers l'homme n'est pas bien d'écrit. Cette Une connaissance accrue de la diversité et de la quantité des MNT dans divers réservoirs environnementaux devrait aider à lier les cas cliniques et leurs sources [41].

Actuellement il existe peu d'études quantitatives sur la présence des différentes espèces de MNT dans les environnements aquatiques. Ceci est notamment lié au manque de techniques de quantifications adaptées à l'environnement.

3-3-5. Techniques d'Isolement des Mycobactéries atypiques

Le réservoir des MNT étant environnemental (terre, eau à la fois dans les sources naturelles, mais également dans les réseaux de distribution, même après traitement), la présence d'une MNT dans un prélèvement ne permet pas d'affirmer le diagnostic d'infection. La première difficulté est de différencier colonisation et infection. Depuis plus de 30ans, de nombreux auteurs ont essayé de définir des critères diagnostiques permettant de différencier infection de colonisation[42].

Le diagnostic clinique des mycobactérioses est particulièrement difficile à cause de son développement tardif et de l'existence d'autres infections opportunistes antérieures à l'infection mycobactérienne.

Les premiers critères d'infection émis par l'American Thoracic Society (ATS) en 1974, imposaient deux exigences :

- e. la présentation clinique et radiologique ne pouvait pas être expliquée par une autre pathologie
- f. et la mycobactérie devait être isolée seule sur des prélèvements répétés ou au niveau d'un site stérile

En 1990, l'ATS émet de nouvelles recommandations, plus restrictives pour le diagnostic

En premier lieu, elle différencie les patients avec ou sans lésion cavitaire et précise le nombre minimal de prélèvements devant être positifs pour chaque cas.

Devant une lésion cavitaire pulmonaire, il est nécessaire, pour parler d'infection à MNT, d'avoir au moins deux prélèvements respiratoires positifs. Dans le cas d'une lésion non cavitaire, en plus des deux prélèvements respiratoires positifs, un échec de négativation des cultures, après toilette bronchique ou après deux semaines d'un traitement spécifique par antituberculeux, est exigé.

En 1997, l'ATS a mis à jour ses critères diagnostiques.

Ceux-ci sont de trois types : clinique, radiologique et bactériologique. Le tableau clinico-radiologique doit être compatible avec une infection à MNT et le nombre de prélèvements positifs nécessaires augmente (trois prélèvements pulmonaires si l'examen direct est négatif, deux sinon), sauf lorsque le prélèvement est un lavage bronchoalvéolaire (LBA) (un seul prélèvement positif est alors nécessaire, quel que soit le résultat de l'examen direct).

Dans les dernières recommandations communes à l'ATS et à l'infectious Disease Society of America (IDSA), établies en 2007, le nombre de prélèvements pulmonaires positifs, quel que soit le résultat de l'examen direct, est réduit à deux, sauf pour LBA où un seul prélèvement positif reste suffisant au diagnostic [1]

Ces nouveaux critères, en réduisant le nombre de prélèvements nécessaires pour affirmer l'infection, vont probablement augmenter le nombre de patients considérés comme ayant une infection pulmonaire à MNT.

C'est pourquoi les recommandations précisent que toutes les infections ne nécessitent pas forcément un traitement, ce qui peut augmenter la complexité de la prise en charge de ces patients.

Actuellement, les critères de définition des infections à MNT restent controversés. Dans les recommandations britanniques de 1999, la présence d'au moins deux cultures positives sur des prélèvements réalisés au moins à sept jours d'intervalle, avec des lésions radiologiques compatibles, quelle que soit la symptomatologie clinique, permet d'affirmer le diagnostic d'infection pulmonaire à MNT[43].

De plus, la BTS (British Thoracic Society) insiste sur le fait qu'une « colonisation » peut être suivie à plus ou moins long terme d'une réelle infection à MNT.

Dans tous les cas, l'idéal est d'avoir des prélèvements multiples réalisés des jours différents afin d'augmenter la valeur prédictive positive de l'analyse microbiologique. Compte tenu de la lente évolution de la pathologie, la persistance de prélèvements positifs réalisés sur une

période de temps longue plaide en faveur d'une réelle infection, non contenue par l'immunité locale ou générale de l'individu.

Les recommandations américaines concernant les MNT sont essentiellement déduites des données scientifiques concernant *M. avium intracellulare*.

Néanmoins, pour ne pas méconnaître une infection évoluant à bas bruit, l'ATS/IDSA 2007 recommande actuellement de répéter les prélèvements jusqu'à ce que le diagnostic soit affirmé ou infirmé (mise en évidence d'un autre diagnostic expliquant la symptomatologie). Ces définitions évolueront probablement encore dans le temps et prendront probablement en compte l'espèce en cause et/ou certains facteurs associés à un mauvais pronostic, comme un examen direct positif.

La lésion cavitaire, superposable à celle constatée dans la tuberculose pulmonaire, peut généralement être diagnostiquée sur une simple radiographie thoracique. Elle n'a pas de caractéristique particulière qui permet de faire la distinction avec une tuberculose pulmonaire. Pour les lésions nodulaires ou sur bronchectasies, le scanner thoracique haute résolution est nécessaire afin de correctement visualiser les différentes lésions, et pouvoir apprécier secondairement leur évolution. Celui-ci permet généralement de mettre en évidence des lésions bronchectasiques dans les lobes moyens et inférieurs associées le plus souvent à des micronodules multiples de moins de 5mm. Il est intéressant de constater que l'atteinte pleurale est extrêmement rare dans les infections à MNT.

La principale difficulté de ces critères réside dans le fait que les signes fonctionnels respiratoires d'infection sont aspécifiques (toux, expectorations, dyspnée) qui peuvent exister dans la pathologie respiratoire chronique sous-jacente sans qu'il n'y ait de surinfection.

De plus, comme la majorité de ces patients présentent une pathologie respiratoire chronique favorisant l'infection à MNT, il est difficile de savoir si les signes fonctionnels constatés sont liés à l'infection ou à l'évolution de la maladie sous-jacente.

De même, l'idéal est de posséder une radiographie thoracique antérieure pour affirmer l'apparition de nouvelles lésions, qui, malheureusement sont aspécifiques. L'un des points essentiels, hors microbiologie, des critères ATS/IDSA 2007 d'infection à MNT est l'exclusion appropriée d'autres diagnostics [44].

3-3-5-1. Diagnostic bactériologique

Le diagnostic repose sur la mise en évidence des MNT dans différents types de prélèvements (expectoration, tubage gastrique, LBA, moelle osseuse, ponction ganglionnaire, biopsie ou hémoculture. . .).

Rappelons que si la présence d'une MNT dans un site stérile, dans une biopsie, un prélèvement opératoire ou un liquide de ponction suffit à affirmer le diagnostic, celui d'infection pulmonaire doit être posé en présence d'un tableau clinique et radiologique évocateur.

Les mycobactéries sont des bacilles acido-alcoolrésistants mis en évidence par une coloration fluorescente à l'Auramine ou par coloration de référence de Ziehl-Neelsen.

La morphologie des MNT ne permet pas de les distinguer des mycobactéries tuberculeuses. La culture se fait sur des milieux spécifiques solides (Löwenstein-Jensen, Coletsos, Middlebrook®) et sur milieux liquides (BD MGITTM Becton Dickinson, BacT/ALERTMPTM Biomérieux).

L'incubation des cultures est de 12 semaines pour les milieux solides et de 42 jours pour les milieux liquides. Le délai de positivité des cultures dépend des espèces, des milieux solides ou liquides et des températures d'incubation. En dehors des mycobactéries à croissance rapide dont la durée de croissance est généralement de moins de sept jours, le temps de positivité des cultures est de trois à quatre semaines pour la plupart des MNT à croissance lente et de huit à 12 semaines pour certaines espèces (*M. ulcerans*, *M. xenopi*, *M. malmoense*). L'identification des différentes espèces de MNT est actuellement réalisée par les techniques moléculaires, au détriment des méthodes biochimiques traditionnelles.

Les sondes GenProbe/AccuProbe® permettent l'identification de quelques mycobactéries (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. gordonae*, etc.) par hybridation de sondes d'ADN aux multiples copies d'ARN ribosomal présentes dans les cultures positives.

Des techniques plus récentes et plus discriminantes reposent sur l'hybridation de séquences d'acides nucléiques amplifiées à des sondes spécifiques d'espèces.

3-3-5-2. Examen direct d'expectoration

- Principe

Les mycobactéries, du fait de la structure de leur paroi, ne prennent pas les colorants usuels comme ceux utilisés pour la coloration de Gram.

Il est impératif d'effectuer le prélèvement si possible avant tout traitement antimycobactérien. L'utilisation de récipients stériles, à usage unique et à fermeture hermétique est recommandée. Il faut éviter la contamination pouvant être à l'origine d'examen faussement positif. En cas de négativité des expectorations ou devant la difficulté pour un

patient d'émettre des crachats de qualité, les produits d'aspiration trachéale ou trachéobronchique seront recueillis à l'aide d'une sonde d'aspiration. En hospitalisation, des tubages gastriques sont également réalisés chez les malades à jeun, alités depuis la veille et le plutôt possible au réveil.

- Coloration

La technique de référence « Dougoumier » pour colorer les structures pariétales des mycobactéries permet la fixation en série de nombreux frottis. Les mycobactéries apparaissent comme de fins bacilles plus ou moins réguliers roses à l'Auramine Rhodamine, d'où une spécificité de 100% de cette méthode pour les mycobactéries, contre la méthode de Ziehl-Neelsen utilisant la fuchsine phéniquée à chaud, suivie d'une décoloration par une solution d'acide et d'alcool mélangée et d'une contre coloration au bleu de méthylène sur un fond bleu-vert irréversible de colorant tel que la fuchsine et l'Auramine .

L'observation des frottis se fait au grossissement (objectif X100) du fait du bacille, des BAAR, et une observation d'au moins 300 champs est nécessaire avant de rendre un résultat négatif (20 min / lame). Cela représente l'inconvénient majeur de cette technique pour l'observation.

C'est une alternative à la coloration de Ziehl-Neelsen pour la mise en évidence des mycobactéries. Elle permet d'augmenter la sensibilité de l'examen direct et permet un screening plus rapide. Un résultat positif à la coloration par l'auramine doit être confirmé par une coloration de Ziehl-Neelsen (qui peut être réalisé sur la même lame).

- La méthode de la fluorescence

Plusieurs laboratoires ont remplacé la technique de Ziehl-Neelsen par celle de la coloration à l'auramine rhodamine qui présente les mêmes propriétés que la fuchsine phéniquée pour colorer les mycobactéries. L'observation est effectuée sur un microscope à fluorescence sous la lumière bleue ou rayonnement UV, les BAAR apparaissent comme des bâtonnets jaune vert brillants sur fond sombre. C'est pourquoi les frottis colorés par l'Auramine peuvent être examinés avec les objectifs de faibles grossissements X25 et X40 ceux qui permettent d'examiner la totalité du frottis en 5 minutes au moins.

La surface de chaque champ microscopique observé étant 16 fois plus grande qu'avec un objectif à immersion de grossissement X100, l'examen microscopique est plus rapide, plus aisé et plus sensible.

- Notation des résultats

Le nombre de bacille observé dans un frottis reflète la gravité de la maladie et de la contagiosité du malade. Il est donc important de noter le nombre de bacille observé sur chaque frottis.

En effet, un examen direct positif semble en faveur d'une charge bactérienne plus élevée puisqu'il faut au moins 5000 à 10 000 bacilles par millilitre (ml) de produit pathologique pour voir au moins un bacille acido-alcoolo résistant (BAAR) sur un frottis avec une probabilité supérieure à 95 % [45].

Tableau I: Notation des résultats de l'examen direct d'expectoration [46].

0 BAAR	Par 100 champs à l'immersion	Négatif
1 à 9 BAAR	Par 100 champs à l'immersion	Faiblement positif « Rares BAAR »
10 à 99 BAAR	Par 100 champs à l'immersion	Positif 1+
1 à 10 BAAR	Par champ	Positif 2+
Plus de 10 BAAR	Par champ	Positif 3+

Si le frottis est correctement préparé, il est vraisemblable que le nombre de bacille qu'il contient sera lié à la concentration des bacilles dans les crachats. La probabilité de ne pas trouver de BAAR dans les frottis diminue constamment lorsque la concentration des bacilles dans les expectorations augmente. Quand la concentration des bacilles dans les expectorations atteint 100 000 par ml, la probabilité d'un résultat négatif est presque nul [45].

- Sensibilité de l'examen microscopique

L'examen microscopique n'est pas très sensible puis qu'il faut entre 5000 et 10 000 bacilles par ml de crachat pour que l'on puisse voir au moins un BAAR sur un frottis avec une probabilité supérieure à 95 %. L'examen de plusieurs échantillons en général trois, améliore la sensibilité de la technique.

Malgré ses limites, l'examen microscopique reste une étape essentielle du diagnostic de la tuberculose puisqu'il permet de détecter rapidement, en pratique en moins d'une heure, les malades les plus contagieux pour leur entourage.

La microscopie a connu des progrès considérables avec l'avènement de la technologie LED (Diode Electro-Luminescent) qui a été incorporé au microscope primo star de Zeiss.

Ce microscope doté d'objectifs très performant permet d'optimiser la lecture des lames avec des résultats très satisfaisants. Près de 50 % des malades atteints de tuberculose pulmonaire à culture positive ont des bacilles visibles à l'examen microscopique.

En cas d'infection par le VIH, le taux de positivité des frottis dépend du degré de l'immunodéficience[47].

- Résultats faussement positifs

➤ **Particules acido résistantes** : Il arrive qu'un échantillon de crachats ou un frottis contienne des particules qui sont acido résistantes, c'est à dire que, traitée par la méthode de Ziehl-Neelsen, elles retiennent le colorant rouge (fuchsine phéniquée) et résistent à la décoloration par l'acide et l'alcool. Les particules rouges peuvent parfois ressembler à des bacilles tuberculeux.

Ce sont certaines particules alimentaires (par exemples des cires, des huiles), des précipités, d'autres micro-organismes, des matières inorganiques et des artéfacts.

➤ **Contamination par transfert de bacilles d'un frottis à l'autre**

Il peut arriver que des bacilles soient transférés accidentellement d'une lame positive à une lame négative, lorsque plusieurs lames sont traitées simultanément dans des cuves à coloration ou à décoloration. Des bacilles peuvent également être transférés accidentellement si la baguette de verre ou le compte-gouttes utilisé pour appliquer l'huile à immersion sur la lame touche la surface d'une lame positive et enlève un peu de frottis.

➤ **Résultats faussement négatifs**

Ils sont habituellement dus à des insuffisances dans la préparation, la coloration et la lecture de la lame. Le recueil correct de l'échantillon et la sélection soigneuse des particules de crachats sont des éléments essentiels de la préparation du frottis.

3-3-5-3. Diagnostic à partir de la culture

La culture est beaucoup plus sensible que l'examen microscopique et permet l'identification de la mycobactérie isolée, ainsi que la mesure de sa sensibilité aux antibiotiques.

En raison des exigences nutritives et de la croissance lente de la majorité des espèces mycobactériennes, il est nécessaire d'employer des milieux de culture enrichis et de décontaminer les prélèvements avant de les ensemercer. On ensemece les crachats, les pus caséux et les prélèvements tissulaires. L'identification se fait selon la vitesse de croissance, le caractère morphologique des colonies au Ziehl Neelsen, les caractères biochimiques et la croissance en présence d'inhibiteurs.

Le milieu solide à l'œuf de Löwenstein-Jensen est le milieu le plus couramment employé. La température optimale de croissance est de 35 à 37°C. Le pH optimum est de 6,8 à 7 l'aspect des colonies est lisse.



Figure 12: Milieux de cultures utilisés au laboratoire de tuberculose de SEREFO

Lors de la primo culture, les colonies de *Mycobactéries* poussent sur milieu gélosé de Middlebrook®, en milieu liquide par système fluorescent grâce au *Mycobacterium Growth Indicator Tube* (MGIT) qui pousse en 10 à 20 jours.

Dès l'apparition de colonies constituées la fluorescence du MGIT est observée grâce à un lecteur automatique, semi-automatique ou manuel. Après vérification au microscope optique de la présence de BAAR, les cultures sont déclarées positives. Les résultats sont exprimés quantitativement en nombre de colonie par tube.

Concernant la sensibilité aux antibiotiques, l'ATS recommande d'étudier systématiquement :

- la sensibilité à la clarithromycine pour MAC,
- la sensibilité à la rifampicine pour *M. kansasii* et, en cas de souche de *M. kansasii* résistante à la rifampicine, d'étudier la sensibilité aux antibiotiques suivants : rifabutine, éthambutol, isoniazide, clarithromycine, fluoroquinolones, amikacine et sulfonamides.
- Pour *M. marinum*, il n'y a pas lieu d'effectuer un antibiogramme à moins d'une rechute quelques mois après un traitement antibiotique. Il n'y a pas de recommandation spécifique concernant la méthode d'antibiogramme réalisé in vitro pour les autres MNT.

L'antibiogramme est réalisé en milieu liquide pour MAC et *M. kansasii*, adapté de la méthode des proportions utilisée pour *M. tuberculosis* ou par dilution en milieu solide pour le complexe *fortuitum*. Pour le complexe *fortuitum*, la susceptibilité aux antibiotiques suivants – amikacine, céfoxitine, clarithromycine, ciprofloxacine, doxycycline, linézolide, sulfaméthoxazole, tobramycine – permet de faciliter l'identification de *M. abscessus*, *M. chelonae* et *M. fortuitum*.

3-3-5-4. Autres examens complémentaires

La respirométrie, radiométrie ou Bactec : C'est une méthode de détection rapide de la mycobactérie en milieu liquide. Elle est basée sur la mesure du CO₂ marqué par le carbone 14 libéré par les mycobactéries au cours de leur croissance. Des quantités minimales de CO₂ marqué pouvant être mesurée, la présence de mycobactérie est détectée dans les prélèvements positifs ou non à l'examen microscopique. C'est actuellement la méthode la plus rapide pour la réalisation de l'antibiogramme effectué en moyenne en 7 jours [66].

L'intradermoréaction à la tuberculine qui est un mélange complexe de plus de 200 antigènes mycobactériens peut être positive chez des patients présentant une infection à MNT.

Les tests sanguins Quantiferon TB Gold™ et autres tests similaires utilisant des antigènes spécifiques du complexe *M. tuberculosis* sont négatifs lors d'une infection à MNT.

3-3-6. Traitement

Le traitement dépend de l'espèce en cause. Il est essentiellement médical et repose sur une antibiothérapie associant d'emblée plusieurs antibiotiques. Il n'est cependant pas codifié pour toutes les espèces de MNT. L'identification exacte de la souche pathogène et l'obtention de l'antibiogramme sont les conditions nécessaires à la conduite d'un traitement efficace.

Il est licite, devant un tableau clinique souvent évocateur d'une tuberculose, de démarrer un traitement antituberculeux classique, puis de l'adapter ensuite à la MNT isolée. Les impasses thérapeutiques ou les complications locales peuvent rendre nécessaires des traitements chirurgicaux.

3-3-6-1. Traitement curatif

La plupart des MNT sont résistantes aux antituberculeux et antibiotiques usuels, en raison de leur paroi lipophile empêchant la bonne pénétration des molécules. En effet, la plupart des médicaments antituberculeux ont dix à 100 fois moins d'activité in vitro contre MAC que contre *M. tuberculosis* [31].

Le traitement dépend de l'espèce de MNT. Les antibiotiques habituellement utilisés sont les suivants : les macrolides et apparentés N; les rifamycines, la rifampicine étant de même efficacité que la rifabutine, mais moins toxique; l'éthambutol ; les fluoroquinolones ; l'isoniazide et certains aminosides (Tableau II).

Depuis l'introduction des nouveaux macrolides, les résultats du traitement médical ont été améliorés, les macrolides sont les seuls antibiotiques pour lesquels une corrélation entre la sensibilité in vitro pour le complexe MA, la réponse clinique a été démontrée dans des essais cliniques contrôlés [38]. la résistance est croisée entre clarithromycine et azithromycine, l'existence de mutants résistants préexistant à toute antibiothérapie justifie l'usage d'une trithérapie, voire quadrithérapie comme dans la tuberculose [34]

Tableau II : Liste des médicaments dits essentiels, leurs posologies, les fréquences de prise effets secondaires majeurs [38].

Antibiotiques	Effets pharmacologiques	Posologies quotidienne en mg /kg/jour	Effets secondaires majeurs
Isoniazide	Bactéricide	20-30	Hypersensibilité, hépatite, neuropathie périphérique
Éthambutol	Bactériostatique	225-300	Névrite optique
Rifampicine	Bactéricide	80-120	Coloration orangée des sécrétions, troubles gastro-intestinaux, hépatite, insuffisance rénale
Rifabutine	Bactéricide	150-300	Leucopénie, uvéite antérieure, arthralgies
Azithromycine et Clarithromycine	Bactéricides	300 et 1500-2000	Troubles gastro-intestinaux, baisse de l'acuité, baisse de l'acuité auditive, hépatite
Céfoxitine	Bactéricide	300-600	Hypersensibilité, toxicité hématologique
Tétracyclines	Bactériostatique	600	Hypersensibilité, toxicité hématologique Tétracyclines Troubles gastro-intestinaux, atteintes cutanées et Neurologiques
Clofazimine	Bactéricide	150-300	Coloration rouge-brun de la peau, troubles gastro-intestinaux
Amikacine	Bactéricide	15	Toxicité cochléovestibulaire et toxicité rénale

3-3-6-2. Traitement des mycobactéries à croissance rapide

Les mycobactéries à croissance rapide comprennent surtout *M. fortuitum* et *M. abscessus*.

Pour *M. fortuitum*, une association de deux antibiotiques selon l'antibiogramme, parmi les nouveaux macrolides, les quinolones, les cyclines (doxycycline ou minocycline), le sulfaméthoxazole/triméthoprime ou l'amikacine est habituellement efficace. Pour *M. abscessus*, plus résistant que *M. fortuitum*, le traitement est plus difficile. Il comprend la clarithromycine (1000 mg/j), l'amikacine (25 mg/kg trois fois par semaine pour une durée pouvant aller jusqu'à trois mois) et la céfoxitine à forte dose (jusqu'à 12 g/j pendant au moins deux semaines, jusqu'à amélioration clinique) ou l'imipénème (50 mg/kg par jour sans dépasser 4 g/j). Pour une maladie sévère, la durée préconisée est de quatre mois, voire six mois en cas d'atteinte osseuse

ces antibiotiques n'étant que bactériostatiques. En cas de maladie extensive, d'abcès ou d'échec de l'antibiothérapie, la résection chirurgicale est généralement indiquée. L'administration périodique (pendant plusieurs mois) d'une combinaison d'antibiotiques incluant un macrolide et au moins un antibiotique parentéral (amikacine, céfoxitine, imipénème) ou d'une association de plusieurs antibiotiques parentéraux pourrait aider à contrôler les symptômes et la progression de la maladie pulmonaire à *M. abscessus*[34].

3-3-6-3. Nouvelles molécules

De nombreuses études sont réalisées pour comparer les activités in vitro de nouveaux antibiotiques sur les MNT. Concernant la maladie à *M. avium*, l'association méfloquine–moxifloxacine–éthambutol semble être une alternative au schéma thérapeutique classique comprenant un macrolide, en cas d'intolérance. Concernant *M. kansasii*, les quinolones (et surtout la moxifloxacine) sont les antibiotiques les plus actifs, suivis de la clarithromycine. Le linézolide de la famille des oxazolidinones est également actif contre *M. kansasii* alors que la télithromycine, un kétolide, semble peu active.

La tigécycline de la famille des glycylicyclines a montré une activité in vitro efficace contre les mycobactéries à croissance rapide, notamment contre *M. chelonae*-*M. abscessus*

Les oxazolidinones et les kétolides ont également démontré une activité in vitro contre *M. abscessus*, mais n'ont pas été suffisamment évalués en clinique

*** Rôle de l'immunothérapie**

Il est actuellement mal établi. Plusieurs articles ont rapporté une bonne réponse à l'IFN (Interféron) des patients ayant une maladie pulmonaire à MNT réfractaire aux antibiotiques ou ayant un déficit en IFN.

L'IFN est généralement administré par voie sous cutanée à la dose de 25 à 50g/m² en deux à trois injections par semaine ou par voie inhalée chez des patients ayant un déficit en IFN [34].

Toutefois, en ce qui concerne l'IFN inhalé, les résultats préliminaires d'une large étude multicentrique ne semblent pas montrer de bénéfice lors de son adjonction à la trithérapie classique dans le traitement de la maladie pulmonaire à MAC [38].

3-3-6-4. Surveillance du traitement

➤ **Tolérance**

Le traitement antibiotique est de tolérance médiocre et de nombreux patients l'arrêtent prématurément en raison de nombreux effets secondaires (Tableau II).

➤ **Efficacité**

Aucun lien n'a pu être mis en évidence entre la sensibilité aux antibiotiques *in vitro* et l'efficacité du traitement *in vivo*, sauf pour les macrolides dans le cas du complexe MAC ni entre l'échec thérapeutique et la résistance *in vitro*

. L'immunité cellulaire du patient joue un rôle prépondérant dans la réponse au traitement

3-3-6-5. Traitement préventif

Au cours de l'infection par le VIH, l'incidence de l'infection disséminée à *M. avium* peut être réduite par l'antibioprophylaxie, envisagée chez les patients fortement immunodéprimés.

Les recommandations françaises conseillent l'utilisation de l'azithromycine, en une prise hebdomadaire de 1200 mg, lorsque le taux de lymphocytes CD4 est inférieur à 75 par millimètre cube. La rifabutine (300 mg/j) est une alternative non recommandée compte tenu des interactions avec les inhibiteurs de protéases et les inhibiteurs non nucléosidiques de transcriptase inverse. La clarithromycine (1000 mg/j) est une autre possibilité [34].

4. Méthodologie

4-1. Type d'étude

Il s'agissait d'une étude rétrospective allant d'août 2006 à décembre 2013, réalisée au Centre de Recherche et de Formation sur le VIH et la Tuberculose (CEREFO/SEREFO). Elle consistait à inclure les cas de MNT identifiés chez les patients suspects de tuberculose pulmonaire et co-infectés par le VIH. Les patients suspects de tuberculose dans les Centres de Santé de Référence (CS. Réf) des six communes du District de Bamako étaient référés au service de pneumo-phtisiologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) du Point-« G » pour consentement et enrôlement dans les différents protocoles de recherche de SEREFO approuvés par les comités d'éthiques de la faculté de médecine et d'odontostomatologie de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) et l'*Internal Review Board* (IRB) du *National Institute of Health* (NIH) des Etats Unis d'Amérique.

Après signature du consentement écrit, on réalisait un examen physique complet des malades et on procédait à la collecte des échantillons. Les échantillons prélevés étaient envoyés à SEREFO pour les différents tests. Ils s'agissaient d'une série de un à deux crachats, sur deux ou trois jours d'intervalles pour le diagnostic de la tuberculose et de 5ml de sang pour le dépistage du VIH.

4-2. Cadre et lieu d'étude

Nous avons réalisé notre étude au laboratoire SEREFO/CEREFO. La majorité des patients recrutés venait du service de pneumo-phtisiologie du CHU du Point-G.

4-2-1. Description du Centre de Recherche et de formation sur le VIH et la Tuberculose (CEREFO/SEREFO)

SEREFO est une initiative de recherche biomédicale entre les Instituts Nationaux de la Santé aux Etats Unis d'Amérique (NIH-NIAID) et l'Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB) Mali.

La principale mission du programme SEREFO est de mener des activités de recherche pointues et durables afin d'améliorer la santé de la communauté Malienne et internationale en conduisant la recherche durable en clinique et en biologie sur les maladies bactériennes et virales avec un accent particulier sur l'immunologie et la biologie moléculaire du VIH et de *Mycobacterium tuberculosis*.

SEREFO travaille en collaboration entre autres avec tous les CS. Réf des six communes du district de Bamako, ARCAD /SIDA-CESAC, le Programme National de lutte contre la

Tuberculose (PNLT) et le service de pneumo-phtisiologie du CHU du Point « G » pour le recrutement des patients dans les différentes études. SEREFO possède 2 principaux laboratoires :

➤ Le laboratoire d'immunologie et d'Hématologie : Il est doté d'équipements de dernière génération pour la cytométrie de flux soutenant des études complexes visant à mieux comprendre le système immunitaire de l'homme, la pathogénie de la maladie, l'équipements de sérologie et d'hématologie.

➤ Le laboratoire de tuberculose de SEREFO est composé d'un laboratoire de biologie moléculaire et d'un laboratoire de niveau de biosécurité 3 (BSL-3).

Le laboratoire SEREFO effectue le diagnostic par PCR en temps réel des cas suspects de la maladie à virus Ebola au Mali depuis avril 2014.

4-2-2. Le centre hospitalier universitaire (CHU) du Point-G

Le CHU du Point G autrefois appelé Hôpital National du Point 'G' emploie 593 personnes. Il est géré par 3 (trois) organes :

- Un conseil d'administration,
- Un comité de direction,
- Une direction générale.

La structure est dotée de 3 missions :

- Mission de soins,
- Mission de formation,
- Mission de recherche.

Sa construction remonte à 1906. Il fut fonctionnel en 1912 sous l'administration de médecins militaires relevant de la section mixte des médecins et infirmiers coloniaux basés à Dakar.

Érigé en hôpital en 1959, il bénéficie du statut d'établissement public à caractère administratif (EPA) doté de personnalité morale et de l'autonomie financière en 1992 suivant la loi 92.025/A.N.R.M. du 05 décembre 1992. Le CHU couvre une superficie de 25 hectares et compte 17 services et occupe le 3^{ème} rang dans la référence qui le met au sommet de la pyramide sanitaire du Mali.

La presque totalité des échantillons de notre étude provenaient du service de pneumo-phtisiologie du CHU du Point-G.

➤ **Le service de pneumo- phtisiologie du CHU du Point-G**

Le service de pneumo-phtisiologie est la référence dans la prise en charge de la tuberculose au Mali.

Il est situé au sud - est de l'entrée principale du CHU du Point-G et comprend :

- cinq (05) bureaux de consultation pour les médecins.
- un (01) bureau pour le major
- une (01) salle pour les internes
- deux (02) bureaux pour les infirmiers dont un à l'étage
- une (01) salle de fibroscopie bronchique et de biopsie pleurale
- une (01) salle des archives
- deux (02) salles de soins
- deux (02) salles réservées pour les cliniciens de SEREFO dont une pour les prélèvements et l'observation des malades co-infectés et l'autre pour la réception des malades
- une (01) salle pour les techniciens de surface
- deux (02) magasins de stockage de médicaments antituberculeux et de matériels médicaux.
- et une unité de prise en charge des malades atteints de tuberculose multi-résistante (TB-MR).

Il comporte 67 lits d'hospitalisation dont 20 au rez-de-chaussée pour les malades non tuberculeux, 32 à l'étage occupés par les tuberculeux bacillifères, et 15 lits pour les malades MDR.

4-3. Echantillonnage

Compte tenu du caractère rétrospectif de cette étude, nous avons enregistré tous les cas de MNT identifiés au SEREFO impliqués dans la co-infection avec le VIH. L'échantillonnage a été composé par l'ensemble des malades MNT des différentes études de SEREFO entre Août 2006 à Décembre 2013.

4-3-1. La Population d'étude

La population d'étude concernait tous les cas de tuberculose identifiés au cours des études de SEREFO et qui répondaient aux critères d'inclusions de ces études. Ces critères variaient en fonction des études et étaient entre autres :

- être âgé de 18 ans au moins
- avoir un taux d'hémoglobine supérieur ou égal à 8 g/dl
- être suspect de tuberculose ou patient sous traitement antituberculeux quelle que soit la durée

- avoir donné son accord pour garder les échantillons et de les utiliser pour des futures recherches,
- avoir donné son accord d'être prélevé pour le dépistage du VIH,
- avoir signé volontairement le consentement écrit et éclairé avant d'être enrôlé dans l'étude.

4-3-2. Critères d'inclusion et de non inclusion

Pour être inclus dans cette étude, les patients devraient être co-infectés par le VIH et une mycobactérie non tuberculeuse. N'ont pas été inclus dans cette étude tous les autres patients qui ne répondaient pas aux critères cités ci-dessus.

4-4. Matériels et Méthodes

4-4-1. Matériels

- Plan de collecte des données

Les données cliniques et sociodémographiques des patients ont été recueillies sur des questionnaires individuels en papiers et transférées sur ordinateur sur fichiers Excel. Chaque patient avait un dossier avec numéro unique. Tous les dossiers étaient rangés dans une armoire fermée à clé. Ces informations ont été ensuite saisies sur Excel et le logiciel Graph pad prism GraphPad Software, Inc. 7825 Fay Avenue, Suite 230 La Jolla, CA 92037 USA.

- Les différents Types d'échantillons

Les échantillons de crachats étaient recueillis dans une boîte en plastique bien étanche (specimen collection c.....) et le sang était collecté dans les tubes de stockage de sérum 5ml (SST) (BD Vacutainer ® plus, Becton 17 K2EDTA, Becton Dickinson, Franklin Lake, NJ, USA).

4-4-2. Méthodes de laboratoire

A SEREFO, tous les échantillons ont été examinés, le sang pour le dépistage du virus de l'immunodéficience Humaine (VIH) et les crachats pour le diagnostic de la tuberculose.

A. Dépistage du VIH

Pour le dépistage du VIH, tous les patients ont été examinés selon l'algorithme suivant :

- le Détermine (Determine® HIV-1/2, Abbott Laboratoires, Matsudo-Shi, Chiba, Japan) puis le Genscreen Ultra (Genscreen, HIV-1/2 version 2 Assay, Bio-Rad Laboratoires, Marnes – La Coquette, France).

Après ces deux tests, tous les résultats positifs étaient confirmés par le Western Blot (New Lav Blot I and II, Bio-Rad Laboratoires, Marnes – La Coquette, France).

B. Le Diagnostic des mycobactéries

B-1. Culture et identification des mycobactéries

Dans le BSL-3 (laboratoire de niveau de biosécurité 3), chaque échantillon était mis en culture à la fois sur un milieu solide et liquide.

Les échantillons étaient traités suivant la procédure standard de digestion, décontamination avec l'hydroxyde de sodium et le N-acétyl L-cystéine à volume égal pendant 15 minutes, suivi d'une neutralisation avec le phosphate buffer à pH neutre (6.8 ± 0.2) et une centrifugation à haute vitesse (3000 g) pendant 15 minutes à 4 °C.

Après centrifugation, une partie du culot était utilisée pour faire des lames colorées à l'Auramine/Rhodamine (BBL™ Becton Dickinson, Sparks MD, USA) pour une lecture au microscope à fluorescence et le reste utilisé pour ensemercer les deux milieux de culture : le milieu solide Middlebrook® 7h11 Agar (Thermo Fisher Scientific, Lenexa, KS, USA) et le milieu liquide Tube Indicateur de Croissance des Mycobactéries (MGIT® ; BBL™ MGIT™ Becton Dickinson, Sparks, MD, USA). Les cultures étaient mises en incubation pour une période totale de 6 semaines ou 42 jours à 37 °C et 7% CO₂ et étaient examinées au moins une fois par semaine pour voir s'il n'y a pas de croissance qui signifiait la positivité. Les cultures positives étaient confirmées par les colorations de Kinyoun (Remel Inc. Lenexa, KS 66215, US) et d'Auramine Rhodamine qui montraient des bacilles fins rouges en forme de bâtonnet qui sont les mycobactéries.

Ensuite, on procédait à l'identification des mycobactéries. Cette identification se faisait par le GenProb Accuprob (Genprobe AccuProbe® GenProbe, San Diego, CA, USA).

B-2. Principe du GenProbe ®/AccuProbe

Le test Genprobe® est un test rapide basé sur l'hybridation de l'acide nucléique et une abilité de la complémentarité de l'ARN ribosomal de la mycobactérie par une sonde moléculaire (probe) spécifique aux différents complexes. Cette sonde est marquée par l'ester acridinique qui est un composé chimiluminescent et donc capable d'émettre de la lumière en cas d'hybridation par l'ARNr de la mycobactérie. C'est cette lumière émise qui est détectée et quantifiée par la machine Genprobe. Il a permis de faire le diagnostic de la plupart des MNT de cette étude. Les autres MNT qui n'avaient pas été identifiées par le GenProbe® ont été envoyés aux USA pour identification supplémentaire par le biais de nos collaborateurs Américains.

4-4-3. Traitement et Analyse des Données

Les données ont été recueillies sur des questionnaires individuels et reportées sur fichier Excel.

Ensuite elles ont été reportées sur Prism, Graph Pad v.2014 pour analyse. Le test qualitatif de X^2 a été utilisé pour déterminer s'il y avait une différence entre les proportions. Le risque alpha de 0,05 a été utilisé pour dire qu'il y'a une différence significative entre les proportions. Les Variables mesurées étaient l'âge, le sexe, la profession, la résidence, le statut VIH, le résultat bactériologique (culture et identification des mycobactéries), résultat du Genprobe® ou de l'identification supplémentaire.

4-4-4. Considérations éthiques et morales

Tous les protocoles d'études dont ces résultats proviennent avaient été acceptées par les comités d'éthiques de deux institutions à savoir :

- le comité d'éthique de la FMPOS, Bamako ; Mali
- le comité d'éthique des instituts nationaux de la santé aux Etats Unis d'Amérique (NIH-NIAID), Bethesda, USA. Les participants avant d'être inclus dans les études signaient le consentement éclairé. Les participants avaient le choix de se retirer de l'étude s'ils le souhaitaient à n'importe quel moment de l'étude sans que cela n'entraîne aucun inconvénient sur leur suivi et traitement par les médecins investigateurs.

La confidentialité a été respectée par l'anonymat des échantillons et l'archivage des dossiers dans une armoire fermée à clé limitant l'accès aux personnels non autorisés.

4-5. Diagramme de GANTT

Différentes Activités/ période	Juillet 2013	03- 14 Jan 2014	02 Fev- 30 Mars 2014	01 Avr-30 Juin 2014	01 Juil.- 15 Sept. 2014	15 Sep- 15 Nov. 2014	Fev 2015
Visite d'initiation, rencontre avec le Directeur et prise de contact							
Formation sur les bonnes pratiques cliniques et de laboratoire							
Elaboration du protocole et stage au laboratoire							
Début du recueil des données							
Analyse des données et écriture de la thèse							
Corrections et discussions des données							
Soutenance de la thèse							

5. Résultats

Au terme de notre étude, nous avons enregistré 439 malades suspects de tuberculose dont 9,6% (42/439) étaient infectés par les MNT. La prévalence de la co-infection par le VIH/SIDA était de 12,9% (38/295) chez les malades tuberculeux, 19,5% (8/41) chez les malades infectés par les MNT et de 14,7% (15/102) chez les malades non tuberculeux avec culture négative.

Parmi les patients co-infectés par le VIH/SIDA et les MNT, le sexe ratio (H/F) était de 1,7 avec un âge moyen de 38 ans et des extrêmes allant de 20 à 75 ans. La majorité des patients exerçait des professions libérales et provenait du district de Bamako et environnant. La toux a été le symptôme le plus rencontré chez les patients.

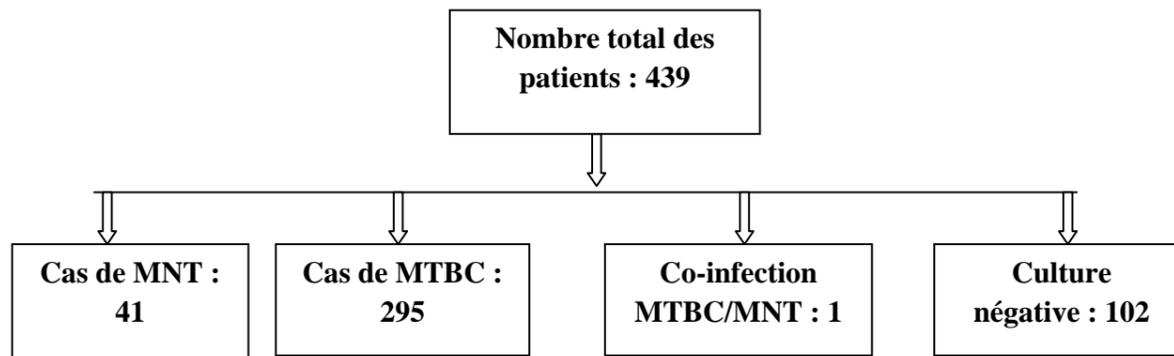


Figure 13 : Diagramme de répartition des patients

Tableau III : Répartition des patients en fonctions du résultat de la culture et l'identification des mycobactéries.

Culture et Identification	Effectif (N)	Pourcentage (%)
Mycobactéries non tuberculeuses	41	9,4
Complexe <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (MTBC)	295	67,2
Co-infection MTBC/MNT	1	0,2
Culture Negative	102	23,2
Total	439	100

Les patients infectés par les mycobactéries non tuberculeuses (MNT) représentaient 9,4%.

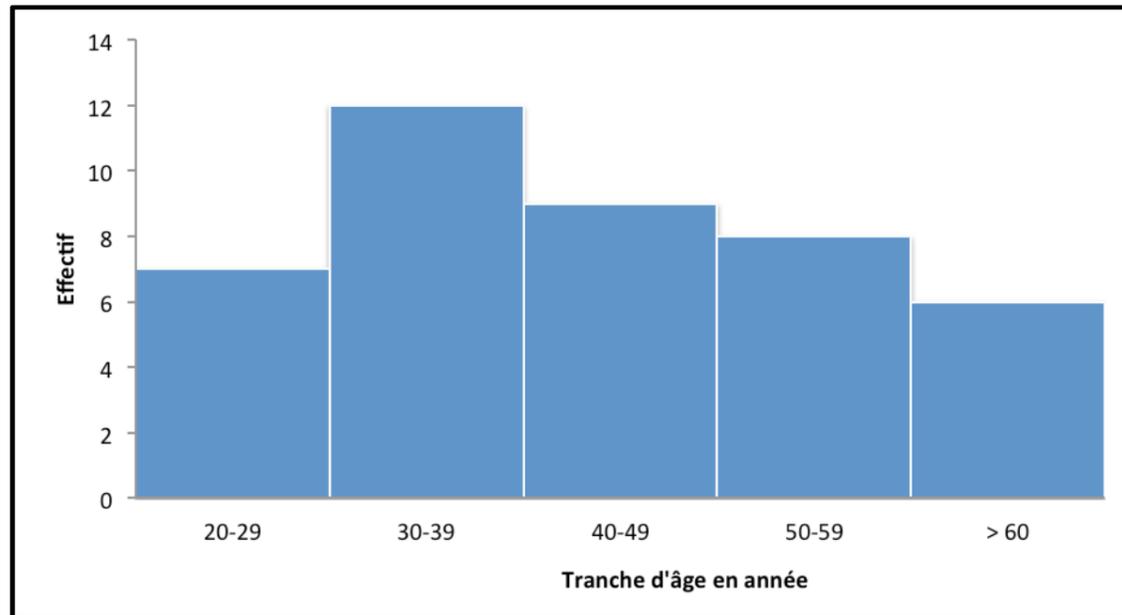


Figure 14 : Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge

La tranche d'âge adulte 20-49 ans représentait près des 2/3 de nos patients

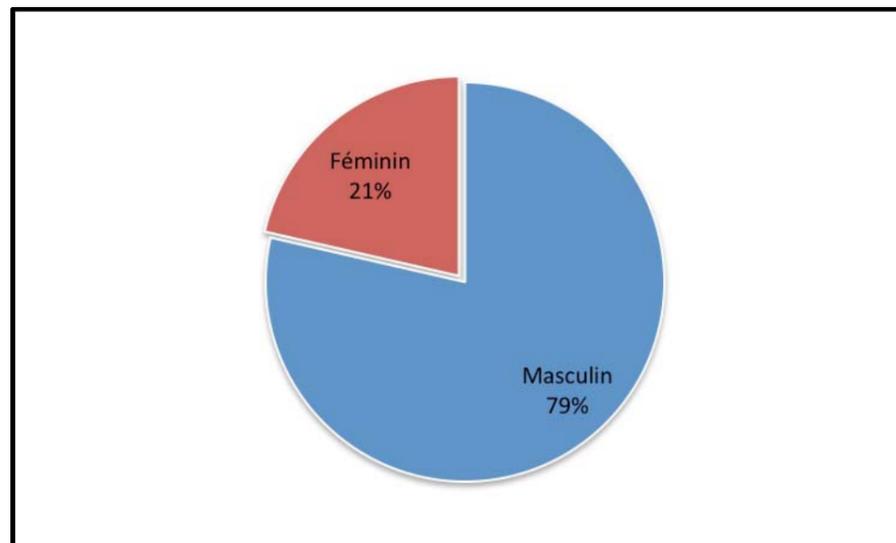


Figure 15: Répartition des patients infectés par les MNT en fonction du Sexe

Les hommes étaient les plus infectés par les MNT atteignant jusqu'à 4/5 des patients.

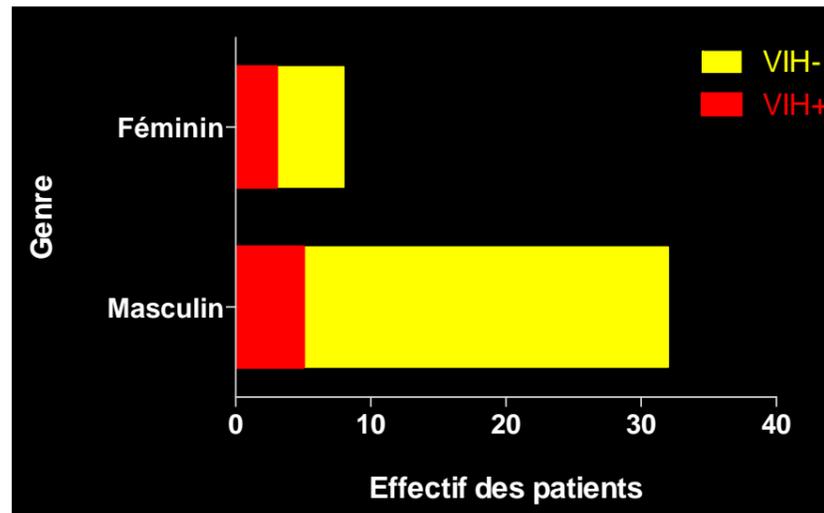


Figure 16 : Répartition des patients infectés par les MNT en fonction du genre et du statut VIH

Les femmes étaient dans 37,5% (3/8) infectées par le VIH, tandis que les hommes étaient infectés dans 14,7% (5/34) des cas.

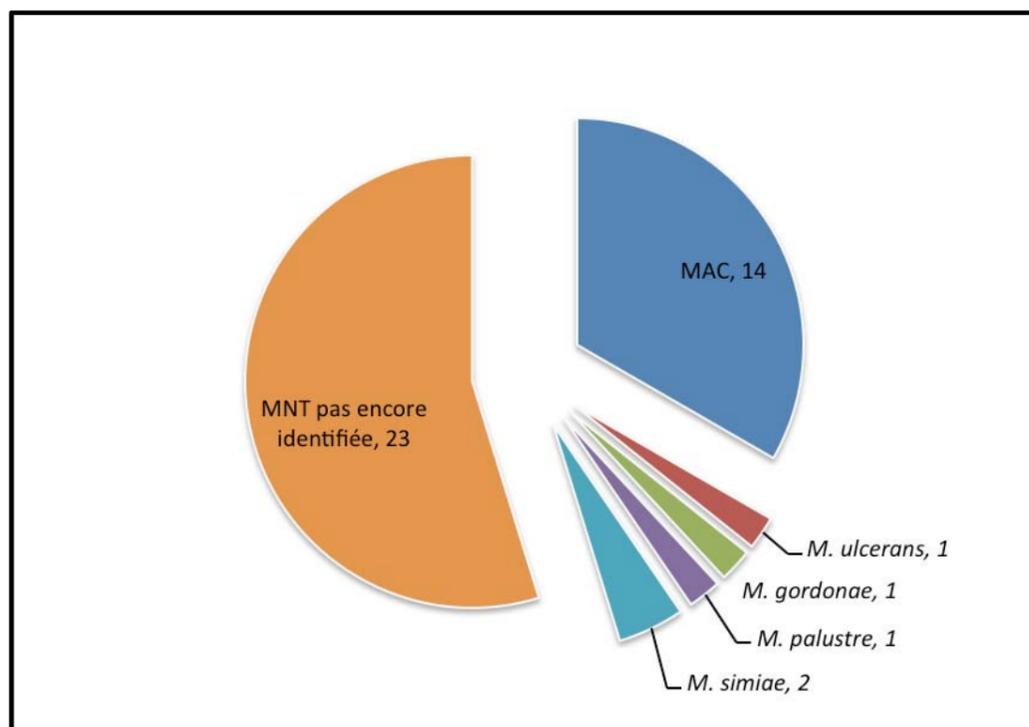


Figure 17 : Répartition des patients infectés par les MNT en fonction de l'identification des souches de MNT.

Parmi les 18 souches de MNT identifiées, 77,8 % (14/18) étaient infectées par le complexe *Mycobacterium avium* (MAC).

Nous décrivons les patients co-infectés par le VIH/SIDA et les MNT :

1^{er} Cas.

MALO20153 âgé de 35 ans, tailleur à Sarambougou, Bamako marié, traité pour tuberculose pulmonaire en 2006, après une microscopie positive à trois croix. Un contrôle de suivi au 3^{ème} mois a été révélé positif et il a été mis sous antituberculeux de catégorie II (2 SRHZE/1RHZE/8RHE). Après le traitement antituberculeux de 12 mois (du 09 juin 2006 au 24 juin 2007), il a subi encore 3 mois de traitement catégorie I + 8 mois de catégorie II sans succès et finalement, Il a été admis au service de pneumo-physiologie du CHU **Point-G** pour fièvre, amaigrissement et toux grasse.

L'examen physique a permis de mettre en évidence, une température corporelle à 35,8°C, le pouls à 84 pulsations/mn, la fréquence respiratoire était de 26 cycles par minute, le poids était de 50kg, la fréquence cardiaque de 85 battements par minute avec un taux d'hémoglobine à 8,7 g/dl.

Après analyse des échantillons à SEREFO, le complexe *Mycobacterium avium* a été isolé par la technique moléculaire (AccuProbe, GenProbe, San Diego CA, USA) et le traitement a été changé conséquemment.

2^{ème} Cas.

MALO20169 âgé de 67 ans, marié, tailleur à Konlondièba dans la région de Sikasso, traité pour tuberculose sans succès par les médicaments de la catégorie I et II. Il a été admis le 28 septembre 2008 au service de pneumo-physiologie du CHU **Point-G** pour dyspnée, douleur thoracique, amaigrissement, toux insomniante.

L'examen physique a permis de mettre en évidence une température corporelle à 36°C, le pouls à 88 pulsations par minute, la fréquence respiratoire était de 26 cycles par minute, la fréquence cardiaque était de 90 battements par minute, un poids de 54 kg et un taux d'hémoglobine de 13,6 g/dl.

Après analyse des échantillons à SEREFO le complexe *Mycobacterium avium* a été isolé par la technique moléculaire Genprobe, (AccuProbe, Gen-Probe, San Diego CA, USA) et le traitement a été change conséquemment.

3^{ème} Cas.

MALO7030 âgé de 53 ans, marié, commerçant, traité pour tuberculose pulmonaire à Banankabougou (Bamako) sans succès. Il a été admis le 21 août 2012 pour toux grasse au service de pneumo-phtisiologie du CHU Point-G

L'examen physique a permis de mettre en évidence une température corporelle de 35,4°C, une fréquence cardiaque à 102 battements par minute, une fréquence respiratoire de 28 cycles par minute et un taux d'hémoglobine de 11,6g/dl.

Après analyse des échantillons à SEREFO le complexe *Mycobacterium avium* a été isolé par la technique moléculaire Genprobe, (AccuProbe, Gen-Probe, San Diego CA, USA) et le traitement a été changé conséquemment.

4^{ème} Cas.

MALO7043 âgé de 29 ans marié, commerçant, traité pour tuberculose pulmonaire à Magnambougou (Bamako) sans succès. Il est admis le 25 février 2013 au service de pneumo-phtisiologie du CHU Point-G pour une toux de plus de 2 mois, sueurs nocturnes de plus de 3 semaines avec amaigrissement important.

L'examen physique a permis de mettre en évidence une fièvre à 37,5°C, un poids de 53 kg le pouls était de 87 pulsations par minute, la fréquence respiratoire était de 24 cycles par minute.

Les analyses de SEREFO ont isolé une MNT dont l'identification est en cours chez les partenaires de SEREFO des instituts nationaux de la santé des états unis d'Amérique avec la technique *SecA* car la technique GenProbe se limite à quelques espèces seulement de MNT.

5^{ème} Cas.

MALO7044 âgée de 41 ans, mariée, ménagère, traitée pour tuberculose pulmonaire à Senou Médine (Bamako) sans succès. Elle était traitée avec les médicaments de la catégorie I et II. Elle a été admise le 25 février 2013 au service de pneumo-phtisiologie du CHU Point-G pour toux grasse de plus de 3 mois, sueurs nocturnes de plus d'un mois avec amaigrissement important.

L'examen physique a permis de mettre en évidence une fébricule à 37,2°C, un poids de 47 kg, une pulsation à 80/mn et une fréquence respiratoire de 32 cycles par minute.

Les analyses de SEREFO ont isolé une MNT dont l'identification est en cours chez les partenaires de SEREFO des instituts nationaux de la santé des états unis d'Amérique avec la technique *SecA* car la technique GenProbe se limite à quelques espèces seulement de MNT.

6^{ème} Cas.

MALO7129 âgée de 33 ans, mariée, ménagère, traitée pour tuberculose pulmonaire à Koniobla (commune rurale de Sanankoroba) sans succès. Elle était traitée avec les médicaments de la catégorie I. Finalement elle a été admise le 7 octobre 2013 au service de pneumo-phtisiologie du **Point-G**, pour toux grasse plus de 3 mois, sueurs nocturnes, amaigrissement, fièvre pour une meilleure prise en charge.

L'examen physique a permis de mettre en évidence un poids de 47 kg, une température corporelle de 35,2°C, une pulsation de 80/mn, et une fréquence respiratoire de 28 cycles par minute.

Les analyses de SEREFO ont isolé une MNT dont l'identification est en cours chez les partenaires de SEREFO des instituts nationaux de la santé des états unis d'Amérique avec la technique *SecA* car la technique GenProbe se limite à quelques espèces seulement de MNT.

7^{ème} Cas.

MALO7130 âgé de 39 ans, célibataire, enseignant, traité pour tuberculose pulmonaire à Faladjè SEMA (Bamako) sans succès. Il était traité avec les médicaments de la catégorie I. Il a été admis le 08 octobre 2013 au service de pneumo-phtisiologie du CHU **Point-G** pour une toux chronique de plus de 3 mois, amaigrissement.

L'examen physique a permis de mettre en évidence un poids de 46 kg, une température corporelle de 37,5°C, une pulsation de 60/mn, et une fréquence respiratoire de 32 cycles par minute.

Après analyse des échantillons à SEREFO le complexe *Mycobacterium avium* a été isolé par la technique moléculaire Genprobe, (AccuProbe, Gen-Probe, San Diego CA, USA) et le traitement a été changé conséquemment.

8^{ème} Cas.

ID22MAY13 âgée de 36 ans, mariée, mère de 4 enfants à Banconi (Bamako), admise au service des maladies infectieuses et tropicales (SMIT) du CHU **Point-G** pour ulcération vulvaire, et altération de l'état général.

Le début remonterait à 3 mois marqué par des papules qui seront secondairement ulcérées occupant toute la vulve. Elle entreprit un traitement traditionnel sans succès.

L'examen physique montrait une ulcération vulvaire rendant méconnaissable la vulve à fonds sale et à contours irréguliers et une altération de l'état général.

Les analyses de SEREFO ont isolé une MNT dont l'identification est en cours chez les partenaires de SEREFO des instituts nationaux de la santé des Etats Unis d'Amérique avec la technique *SecA* car la technique GenProbe se limite à quelques espèces seulement de MNT.

L'identification du complexe *Mycobacterium ulcerans* par la technique PCR a été faite par les collaborateurs de SEREFO du laboratoire de référence des mycobactéries (LRM) de Cotonou (Bénin).

Tableau IV. : Récapitulatif des huit patients co-infectés par les MNT et le VIH/SIDA

No. Patient	Age	Année de diagnostic	Sexe	Profession	MNT isolées	TYPES DE VIH
MAL020153	35	2007	Masculin	Tailleur	MAC	VIH-1
MAL020169	67	2008	Masculin	Tailleur	MAC	VIH-1
MAL07030	53	2012	Masculin	Commerçant	MAC	VIH-1
MAL07043	41	2013	Masculin	Commerçant	MNT <i>Identification en cours</i>	VIH-1
MAL07044	29	2013	Féminin	Ménagère	MNT <i>Identification en cours</i>	VIH-1
MAL07129	33	2013	Féminin	Ménagère	MNT <i>Identification en cours</i>	VIH-1 et VIH-2
MAL07130	39	2013	Masculin	Enseignant	MAC	VIH-1
ID22MAY13	36	2013	Féminin	Ménagère	<i>M. ulcerans</i>	VIH-1

MAC= *Mycobacterium avium* complexe

MNT= Mycobactérie non tuberculeuse

VIH-1et VIH-2= Virus de l'immunodéficience humaine 1 et 2

6. Commentaires et Discussions

6-1. Globalement

La connaissance de la distribution des mycobactéries non tuberculeuses dans les pays à faibles revenus comme le Mali pourrait faciliter la mise en place des mesures de prévention et de lutte contre ces mycobactéries. Ainsi nous avons effectué cette étude pour déterminer la prévalence des mycobactéries atypiques entre août 2006 et décembre 2013 et avons pu démontrer que ces mycobactéries atypiques étaient responsables de **9,4% (42/439)** des cas de suspicion de tuberculose à Bamako. Cette fréquence est légèrement en baisse par rapport aux récentes études effectuées par Zida (en 2014) au Burkina Faso et Maiga (en 2012) au Mali qui étaient respectivement de 11 et 12% [16].

La prévalence de la co-infection MNT et VIH/SIDA a été de 19,5% (8/42) et celle des mycobactéries du complexe *tuberculosis* et le VIH/SIDA a été de 12,9% (38/295). Cette différence dans la distribution de l'infection à VIH parmi les deux types de mycobactéries avait été aussi observée dans plusieurs autres études [29]. Elle pourrait s'expliquer par le fait que ces MNT sont presque inoffensifs chez les sujets immunocompétents [1]. Aussi nous avons constaté que la fréquence de la co-infection MNT/VIH était de 37,5% chez les femmes tandis qu'elle était de 15,6% chez les hommes, mais cette différence entre les femmes et les hommes n'est pas statistiquement significative ($p < 0,66$). Un échantillon beaucoup plus large est nécessaire pour confirmer ou infirmer cette tendance féminine de la co-infection NTM/VIH.

La tranche d'âge la plus affectée par les mycobactéries atypiques est celle entre 30 et 49 ans soit 50% (21/42) et les hommes sont les plus touchés représentant 80 % (33/42). Cela est en accord avec la distribution de la tuberculose dans la population générale, puisque la tuberculose est masculine dans plus de 2/3 des cas. Ce qui explique en partie le fardeau de la tuberculose puisque qu'elle touche la population masculine adulte, active et productive.

Nous avons constaté que tous les patients infectés par ces MNT avaient subi des traitements anti-tuberculeux pendant plusieurs mois (au moins 5 mois chacun) avant leur diagnostic à SEREFO. La présence des MNT chez les patients en échec de traitement a un impact substantiel sur la gestion clinique des patients. Des erreurs diagnostiques de la tuberculose pulmonaire à cause de la présence des MNT vont entraîner des traitements inappropriés ou inadéquats chez ces patients. Ces constatations avaient été faites aussi par Zadi et Maiga [16].

La mycobactérie non tuberculeuse la plus retrouvée a été le complexe *Mycobacterium avium* aussi bien chez les patients co-infectés par le VIH que ceux mono-infectés par les MNT.

Cette observation avait été aussi rencontrée par Maiga et collaborateurs [16]. La plus grande fréquence de l'infection au complexe *M.avium* chez les sujets immunodéprimés pourrait s'expliquer par le fait que ce complexe est plus rencontré dans la nature et dans les hôpitaux [12].

6-2. Individuellement

Dans notre étude nous avons rencontré les malades souffrant des mycobactéries non tuberculeuses de la population adulte, mais la tranche d'âge de 30 à 49 ans était la plus rencontrée avec 50%. Ce qui explique en partie le fardeau des mycobactéries atypiques puisque qu'elle touche la population adulte, active et productive. La plus grande majorité des patients provenaient de Bamako (85,1%), ceci pourrait s'expliquer par le fait que le seul centre spécialisé dans la prise en charge des cas de retraits et échecs se trouve à Bamako et les patients doivent se déplacer pour y accéder. C'est dans cette catégorie d'échec de traitement que sont sortis tous les patients.

Ces patients ont tous soufferts des effets secondaires des médicaments antituberculeux avant de commencer leur traitement approprié (anorexie, nausée, douleurs abdominales, urine rouge-orange, douleurs articulaires sensation de brûlures aux pieds).

3. Quelques limites de l'étude

Notre étude a investigué la prévalence des MNT chez les sujets VIH+ au laboratoire de tuberculose de SEREFO. C'est une maladie qui n'est pas très souvent rencontrée et les médecins n'y pensent pas trop souvent dans leur hypothèse diagnostique puisque difficile à diagnostiquer. Malgré les résultats encourageants, l'étude comporte des limites qui sont entre autres:

- Le caractère rétrospectif de l'étude avec des difficultés rencontrées dans la collecte des données. Nous avons été confrontés à certaines incohérences dans la récolte des données des dossiers de certains patients, ce qui a constitué une limite dans le choix des facteurs de risque à investiguer.
- Le nombre relativement faible des patients co-infectés par le VIH et les MNT pour mener des analyses approfondies.
- Les difficultés rencontrées au niveau du suivi du malade sous traitement et son évaluation à la fin du traitement.

Ces quelques limites pourraient être corrigées avec une étude prospective avec un échantillon beaucoup plus large comprenant les malades des différentes régions du Mali pourrait mieux préciser la prévalence de la co-infection mycobactéries atypiques et VIH/SIDA au Mali.

7. Conclusion

Nous avons mené une étude rétrospective transversale dans le laboratoire de niveau III de sécurité du centre de recherche et de formation sur la tuberculose et le VIH (SEREFO) pour évaluer la fréquence de la co-infection VIH/SIDA et les mycobactéries non tuberculeuses (MNT) à Bamako entre 2006 et 2013.

Pendant cette période, 439 cas de suspicion de tuberculose ont été testés. Les patients étaient composés de 295 cas d'infection à MTBC, 41 cas de MNT et 1 cas de co-infection MTBC/MNT. Le *sexe ratio* a été de 1,7 et la tranche d'âge 30-49 ans était la plus représentée avec 50%. La prévalence de la co-infection VIH/SIDA et MNT a été de 19,5% et la technique moléculaire (Genprobe, AccuProbe, Gen-Probe, San Diego CA.USA) a été la méthode la plus utilisée pour identifier les espèces mycobactériennes. Parmi les MNT identifiées, le complexe *mycobacterium avium* a été l'espèce la plus rencontrée aussi bien chez les patients VIH+ que chez les VIH-. Plus de la moitié des patients (62,5%) avait été diagnostiquée en 2013 montrant une augmentation du nombre de cas par rapport aux autres antérieures.

8. Recommandations

Au terme de notre étude nous formulons quelques recommandations :

➤ **Aux personnels des centres de diagnostic et de prise en charge de la tuberculose (CDT)**

- De suspecter une infection à MNT devant tout cas de retard de conversion de la microscopie chez un malade sous traitement et en particulier infecté par le VIH/SIDA
- De demander une culture des mycobactéries chez tout malade suspect d'infection à MNT

➤ **Aux malades et à leurs familles**

- De consulter rapidement leur chargé de traitement devant tout autre signe pendant le traitement ou devant le retard dans la disparition des signes de tuberculose ou devant la non amélioration de leur état de santé.
-

➤ **Au CEROFO/SEREFO et ses Partenaires**

- D'étendre cette étude à un échantillon de plus grande taille comprenant toutes les régions du Mali pour mieux préciser la prévalence des mycobactéries non tuberculeuses au Mali.
- De continuer à supporter l'unité de prise en charge de la TB-MR et tout autre CDT pour le diagnostic et les tests de sensibilités des patients dits <<cas chroniques>>.

➤ **Au PNLT/Ministère de la santé**

- De doter les structures de prises en charge en médicaments pour le traitement des mycobactéries atypiques.
- **De doter le laboratoire national de référence de la tuberculose (LNR) de capacité pour faire la culture des mycobactéries chez chaque malade tuberculeux de plus de 5 mois sous traitement et qui continue à avoir une coloration ZN+.**
- Soutenir l'unité de prise en charge de la TB-MR pour une meilleure surveillance de ces patients.
- Eduquer et former les personnels sur la prise en charge de la tuberculose et des mycobactéries non tuberculeuses dans les centres de santé et référer les cas d'échec au service de pneumo-phtisiologie du CHU Point-G le plus tôt possible.

9 Références bibliographiques

- [1] **American Thoracic Society**, “Diagnosis and treatment of disease caused by non tuberculous mycobacteria,” *J Respir Crit Care Med*, vol. 156, pp. 21–25, 1997.
- [2] **WHO**, “Global Tuberculosis Control,” 2012. [Online]. Available: www.who.int/tb/publications/global_report/2011/gtbr11. [Accessed: 17-Feb-2014].
- [3] **Ruyon. N. Castets M, Boisvert H, Grumbach F, Brunel M**, “Tuberculosis bacilli of the African type: preliminary note,” *Rev Tuberc Pneumol*, vol. 32, pp. 179–184, 1968.
- [4] **De Jong BC, Antonio M, et al.** “Mycobacterium africanum--review of an important cause of human tuberculosis in West Africa,” *PLoS Negl Trop Dis*, vol. 4, no. 9, p. 744, 2010.
- [5] **Dorothy Yeboah-Manu, Adwoa Asante-Poku, Thomas Bodmer, et al.** “Genotypic Diversity and Drug Susceptibility Patterns among M. tuberculosis Complex Isolates from South-Western Ghana,” *PLoS One*, vol. 6, no. 7, p. 21906.
- [6] **Tortoli E et al**, “Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s,” *Clin Microbiol Rev*, vol. 16, pp. 319–54, 2003.
- [7] **W. R. J. Metchock BG, Notte FS**, *Mycobacterium. Manual of clinical microbiology*, 7th editio. Washington DC, 2001, pp. 399–437.
- [8] **Wolinsky E, Ryneerson TK.**, “Mycobacteria in soil and their relation to diseases-associated strains,” *Ann Rev Resp Dis*, vol. 97, pp. 1032–1037, 1968.
- [9] **Ahmad S., Akbar P. K., Wiker H. G., et al.** “Cloning, expression and immunological reactivity of two mammalian cell entry proteins encoded by the mce1 operon of Mycobacterium tuberculosis,” *Scand J Immunol*, vol. 50, pp. 510–518, 1999.
- [10] **L.Grellet; C. Kruse**, *Histoires de la tuberculose : les fièvres de l'âme 1800-1940*. Paris, 1983.
- [11] **Timpe A., Ruyon. E.H** “The relationship of ‘atypical’ acid-fast bacteria to human disease. A preliminary report,” *J Lab Clin Med* 1954, vol. 44, pp. 202–209.
- [12] **Ruyon. E.H**, “Anonymous mycobacteria in pulmonary disease,” *Med Clin North Am* 1959, vol. 43, pp. 273–290, 1959.
- [13] **Wyplosz B., Truffot-Pernot C., Robert J., et al.** “Bacteriology of tuberculosis and non tuberculosis,” *Mycobact. Rev Mal Respir*, 1997.
- [14] **Griffith D.E., Aksamit T., Brown-Eliott B.A., et al.** “An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment and prevention of non tuberculous mycobacterial,” *J Respir Crit Care Med*, vol. 175, pp. 367–416, 2007.

- [15] **Martin-Casabona N., Bahrmand A.R., Bennedsen J., et al.** “Non tuberculous mycobacteria: patterns of isolation,” *A multi-country Retrospect. Surv. Int J Tuberc Lung Dis*, vol. 8, pp. 1186–1193, 2004.
- [16] **Maiga M, Siddiqui S, Diallo S, Diarra B, Traore´ B, et al.** “Failure to Recognize Nontuberculous Mycobacteria Leads to Misdiagnosis of Chronic Pulmonary Tuberculosis,” *PLoS One*, vol. 7, no. 5, p. 36902, 2012.
- [17] **C. Andréjak, F.-X. Lescure, J.-L. Schmit, V. Jounieaux, et al.** “Diagnostic et traitement des mycobactérioses atypiques d’expression respiratoire,” *Rev. Mal. Resp.*, vol. 28, no. 10, pp. 1293–1309, 2007
- [18] **www.microbia.free.fr/TS2ABM/Mycobactéries/Cours-Mycobactéries.pdf**
[Accessed: 26-Mar-2014].
- [19] **S. Juffermans, N.P., A. Verbon, S.A. Danner, E.J. Kuijper,** “Mycobacterium xenopi in HIV-infected patient: an Emerging pathogen,” *AIDS*, vol. 12, pp. 1661–1666, 1998.
- [20] **V. Lalande.F. Barbut, A.Varnerot, M.Febvre, D.Nesa, S. Wasel,** “Spseudo-oubreack of Mycobacterium gordonae associated with water from refrigerated fountains,” *J.Hosp.Infect*, vol. 48, pp. 76–79, 2001.
- [21] **P. Slosarek, M, M.Kubin,** “Water as possible factor of transmission in mycobacterial infections,” *J.Public Heal.*, vol. 2, pp. 103–105, 1994.
- [22] **WHO,** “Résolution sur l’ulcère de Buruli, appelant à intensifier les recherches sur les outils de diagnostic, de traitement et de prévention,” 2014. [Online]. Available: apps.who.int. [Accessed: 30-Mar-2014].
- [23] **THE UGANDA BURULI GROUP:** Clinical features and treatment of pre-ulcerative Buruli lesions (Mycobacterium ulcerans infection),” *Br. Med. J.*, vol. 2, pp. 390–393, 1970.
- [24] **B. Asiedu K, Raviglione MC, Scherpbier R,** “Infection à Mycobacterium ulcerans,” Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2000 (WHO/CDS/CPE/GBUI/2000.1).
- [25] **M. W. Steffen CM, Smith M,** “Mycobacterium ulcerans infection in North Queensland: the ‘Daintree ulcer,’” *New Zeal. J. Surg.*, vol. 80, pp. 732–736, 2010.
- [26] **A. Ménard , P. Couppié, D. Sainte-Marie, R. Pradinaud . et al,** “Diagnostic par PCR de l’infection à Mycobacterium ulcerans: à propos de trois cas en Guyane française,” *Bull. la Société Pathol. Exot.*, vol. 96, p. 403 405, 2003.
- [27] **OMS 2012,** Traitement de l’infection à *Mycobacterium ulcerans* (Ulcère De Buruli): recommandations à l’intention des agents de santé

- [28] “WHO Annual Meeting on Buruli Ulcer, Geneva, Switzerland, 22–24 March 2010,” in *The HIV-Buruli project at Akonolinga, Cameroon, 2010*, p. 18.
- [29] **Hawkins CC, Gold JWN**, “Mycobacterium avium complex infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome,” *Ann Intern Med*, vol. 105, pp. 184–188, 1986.
- [30] **F. Portaels**, “Le sida et les mycobactéries atypiques” *Ann. Soc. Belge Méd.Trop.* 1987, 67, 93-116
- [31] **G. Ingram C, Tanner D, Durack D, Kernodle G**, “Disseminated infection with rapidly growing mycobacteria,” *Clin Infect Dis*, vol. 16, pp. 463–71, 1993.
- [32] http://www.bio-top.net/Physiopathologie/sida_evolution.htm [Accessed: 28-Feb-2014].
- [33] **Olivier K, Weber D, Wallace R, Faiz A, Lee J, Zhang Y, et al.** “Nontuberculous mycobacteria: multicenter prevalence study in cystic fibrosis,” *Am J Respir Crit Care Med*, vol. 167, pp. 828–834, 2003.
- [34] **V. Prendki a, P. Germaudb, P. Bemerc, A. Masseur d,et al.** “Les infections à mycobactéries non tuberculeuses Non tuberculous mycobacterial infections,” *Revue médecine interne*, vol. 29, pp. 370–379, 2008.
- [35] **P. F. Falkinham JO., Nichols G., Bartram J., Dufours A., al.** “Natural ecology and survival in water of mycobacteria of potential public health significance,” in *Pedley S. et al. (eds), Pathogenic mycobacteria in water : a guide to public health. consequences, monitoring and management*, 2004, pp. 15–25.
- [36] **B. A. Heckert RA., Elankumaran S., Milani A.,et al.** “Detection of a new Mycobacterium species in wild striped bass in the Chesapeake Bay,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 39, pp. 710–715, 2001.
- [37] **V. Stinear T.,et al.** “Analytical methods for the detection of waterborne and environmental pathogenic mycobacteria,” in *Pathogenic mycobacteria in water : a guide to public health consequences, monitoring and management*, pp. 55–73, 2004.
- [38] **H.-T. J. Pickup RW., Rhodes G., Arnott S., Sidi-Boomedine K., Bull TJ., Weightman A., Hurley M.,et al.** “Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in the catchment area and water of the river Taff in South Wales, United Kingdom, and its potential relationship to clustering of Crohn’s disease cases in the city of Cardiff. Appl,” *Environ. Microbiol.*, vol. 71, pp. 2130–2139, 2005.
- [39] **F. Vaerewijck MJM., Huys G., Palomino JC., Swings J.,et al.** “Mycobacteria in drinking water distribution systems: ecology and significance for human health,” *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 29, pp. 911–934, 2005.

- [40] **B. LE Cirillo JD., Falkow S., Tompkins LS., et al.** “Interaction of Mycobacterium avium with environmental amoebae enhances virulence,” *Infect. Immun*, vol. 65, pp. 3759–3767, 1997.
- [41] **C. E. Aubry A., Pan X.S, Fisher L.M., Jarlier V., et al.** “Mycobacterium tuberculosis DNA gyrase: interaction with quinolones and correlation with antimycobacterial drug activity,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, pp. 1281–1288, 2004.
- [42] **Banks J., Hunter A.M., Campbell I.A., et al.** “Pulmonary infection with Mycobacterium xenopi;,” *Rev. Treat. response Thorax*, vol. 39, pp. 376–382, 1984.
- [43] **British Thoracic Society**, “Management of opportunist mycobacterial infections,” *Jt. Tuberc. Comm. Guidel. 1999 Thorax*, vol. 55, pp. 210–218, 2000.
- [44] **Andréjak C., Thomsen V., Johansen I.S., et al.** “Nontuberculous pulmonary mycobacteriosis in Denmark: incidence and prognostic factors,” *J Respir Crit Care Med*, vol. 181, pp. 514–521, 2010.
- [45] **M. D. Pichard E**, “Tuberculose□: maladies infectieuses,” FMPOS-Bamako.
- [46] **C. J. R. A**, *Le tier monde face à la tuberculose peurs et terreurs à la contagion. Cholera, tuberculose, syphilis*, XIXe S. France, 1988.
- [47] **D. Ait-Khaled N**, “Tuberculose□: manuel pour les étudiants en médecine,” *CDS*, vol. 272, no. 99, p. 149.
- [48] **D. H. Rastogi N, Frehel C, Ryter A, Ohayon H, Lesourd M**, “Multiple drug resistance in Mycobacterium avium: is the wall architecture responsible for exclusion of antimicrobial agents,” *Chemother*, vol. 20, no. 666–677, 1981.

FICHE SIGNALETIQUE

Nom: OUATTARA ; **Prénom:** Gaoussou

Téléphone: **E-mail :** gaoussououattarra@yahoo.fr

Titre de la thèse : Prévalence et caractéristiques des mycobactéries non tuberculeuses isolées chez les personnes vivant avec le VIH/SIDA à Bamako, Mali.

Année: Universitaire 2014-2015

Ville de soutenance: Bamako, Mali

Lieu de dépôt: Bibliothèque des Facultés de Médecine et d'odontostomatologie (FMOS) et de la Faculté de Pharmacie (FAPH) de Bamako.

Secteur d'intérêt: Microbiologie, Bactériologie, infectiologie.

RESUME

Introduction et Objectifs

Afin d'évaluer la prévalence et caractéristiques de la co-infection VIH/SIDA et les mycobactéries non tuberculeuses (MNT) à Bamako, nous avons effectué une étude rétrospective transversale entre Aout 2006 et Décembre 2013 le laboratoire de niveau III de sécurité du centre de recherche et de formation sur la tuberculose et le VIH (SEREFO).

Methodologie et Résultats

Quatre cent trente neuf (439) suspects de tuberculose pulmonaire ont été testés et mis en culture. Après positivité des cultures sur milieu solide (7H11) et liquide (MGIT) les tests d'identification ont été fait soient par les méthodes de Genprobe-Accuprobe®, *secA1* ou 16S rRNA gene sequence analysis. Ces identifications ont permis de classer les patients en 295 cas d'infection au complexe *M.tuberculosis* (MTBC), 41 cas de MNT et 1 cas de co-infection MTBC/MNT. Parmi les MNT identifiées, le complexe *Mycobacterium avium* (MAC) a été l'espèce la plus rencontrée aussi bien chez les patients VIH+ que chez les VIH-.

Le *sexe ratio* a été de 1,7 et la tranche d'âge 30-49 ans était la plus représentée avec 50%. La prévalence de la co-infection VIH/SIDA et MNT a été de 19,5% et la technique moléculaire Genprobe, AccuProbe®, a été la méthode la plus utilisée pour identifier les espèces mycobactériennes.

Conclusion

L'infection par les MNT est un problème de sante publique chez les PV'VIH atteignant jusqu'à 19,5% et le MAC est l'espèce la plus rencontrée. Un échantillon beaucoup plus large est nécessaire pour confirmer ces résultats.

Mots clés : MNT, VIH, Bamako-Mali.

ABSTRACT

Family Name: OUATTARA; **First Name:** Gaoussou

Title: Prevalence and characteristics of non-tuberculous Mycobacteria isolated on patients infected with HIV/AIDS in Bamako

Place of deposit: Library of the Faculty of Pharmacy/Faculty of Medicine and Dentistry

E-mail: gaoussououattarra@yahoo.fr; **Phone:** + 223 79 21 32 99

SUMMARY

Introduction and Objectives

To assess the prevalence and characteristics of co-infection HIV / AIDS and non-tuberculous mycobacteria (NTM) in Bamako, we conducted a cross-sectional retrospective study between August 2006 and December 2013 in the biosafety laboratory level 3 of the center of TB and HIV (SEREFO) of the USTTB.

Methods and Results

Four hundred and thirty nine (439) suspected pulmonary tuberculosis suspects were tested with sputum smear microscopy and culture. Positive cultures were identified using either Genprobe-AccuProbe®, 16S rRNA gene secA1 or sequence analysis. Of the identified NTM cases, *Mycobacterium avium* complex (MAC) was the most specie encountered both in HIV patients and non-HIV infected patients.

The sex ratio was 1.7, and the age group 30-49 was the most represented with 50%. The prevalence of co-infection HIV / AIDS and MNT was 19.5%, and the molecular technique Genprobe, AccuProbe®, was the most used to identify mycobacterial species.

Conclusion

Infection with NTM is a public health concern in HIV immunocompromised patients reaching up to 19.5%. *Mycobacterium avium* complex is the NTM specie the most encountered. A much larger sample size study is needed to confirm these results.

Keywords: NTM, HIV, Bamako-Mali.

Serment de Galien

Je jure, en présence des maitres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honore ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure