

Mycobactéries

La tuberculose touche essentiellement les immunodéprimés ou ayant un état général affaibli.

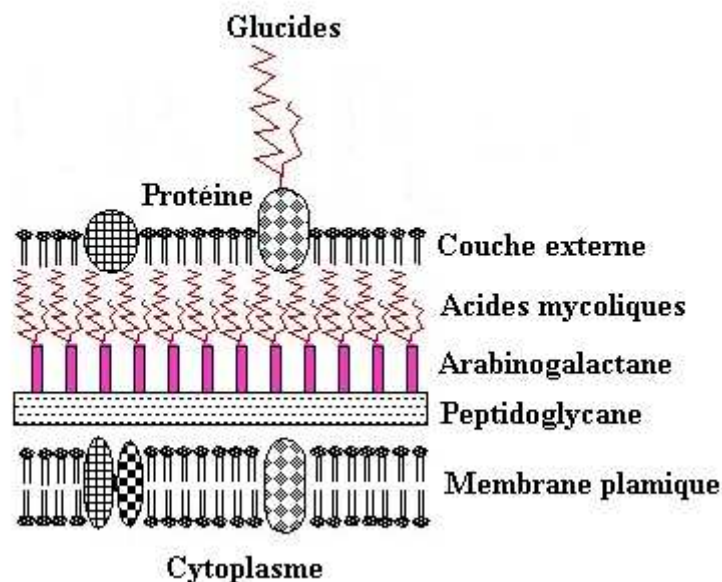
La tuberculose est caractérisée par une structure de leur paroi très spéciale. Elles ne cultivent pas sur milieu ordinaire et ne sont pas sensible aux antibiotiques classiques.

On distingue :

- **Mycobactéries typiques :**
 - Mycobacterium tuberculosis.
 - Mycobacterium bovis.
 - Mycobacterium africanum.
 - **Mycobactéries atypiques :**
 - Mycobacterium avium.
 - Mycobacterium xenopi.
 - Mycobacterium kansasii.
 - Mycobacterium marinum.
- } Bacilles tuberculeux

1° Généralités sur les Mycobactéries :

1.1. Structure de la paroi :



1.2. Conditions de cultures :

Ce sont des bactéries AS mais elles préfèrent une pression partielle en O₂ faible donc, on utilise des milieux en tubes. On incube les tubes couchés, légèrement inclinés avec le bouchon légèrement vissé pour l'évaporation du liquide.

Ce sont des germes exigeants pour lesquels on utilise un milieu de Löwenstein-Jensen (LJ). *Mycobacterium tuberculosis* donne des colonies en 3 semaines à 37°C, non pigmentée (eugoniques). Les autres Mycobactéries typiques donnent des colonies dysgoniques.

1.3. Classification :

- **Mycobactéries du complexe tuberculosis :**

Il regroupe toutes les espèces de Mycobactéries qui sont responsables de tuberculose. Elle est basée sur des caractéristiques génétiques.

- **Mycobactéries atypiques :**

Elles poussent plus vite que *tuberculosis*. On les retrouve dans l'environnement et elles sont opportunistes.

Elles sont classées en 4 groupes selon les travaux de monsieur Rungen :

- **Groupe I :**

Ce sont les espèces photochromogènes (les colonies se pigmentent sous l'effet de la lumière).

- **Groupe II :**

Ce sont les espèces scotochromogènes (pigmentées même en l'absence de lumière).

- **Groupe III :**

Ce sont les espèces non chromogènes.

- **Groupe IV :**

Ce sont les espèces qui poussent en moins d'une semaine.

2° *Mycobacterium tuberculosis* :

2.1. Caractères bactériologiques :

Bacilles, fins, légèrement incurvés. Sa division est très lente, c'est pour cela que le développement de la maladie et le traitement antibiotique est très long.

Ils donnent des colonies muqueuses, en chou-fleur.

Il existe des tests biochimiques pour distinguer *Mycobacterium tuberculosis*, en particulier, le niacine test qui est positif et le test catalase thermolabile qui est positif. On utilise des tests moléculaires.

2.2. Epidémiologie :

L'homme malade est le réservoir de germes. Ce sont les malades porteurs de lésions pulmonaires qui jouent le rôle essentiel dans la dissémination de la tuberculose. La contamination se fait généralement par voie aérienne, par gouttelettes de Pflügge. On estime qu'un malade dont l'expectoration est positive à la coloration de Ziehl est contaminant.

Les autres localisations restent closes et ne participent à la transmission du bacille qu'au stade de fistulisation. La transmission alimentaire ne concerne que la tuberculose à *Mycobacterium bovis* qui est pratiquement éradiquée dans les pays où le cheptel est contrôlé et le lait pasteurisé.

2.3. Physiopathologie :

Les bacilles tuberculeux ne sécrètent ni toxines, ni enzymes responsables du pouvoir pathogène. La tuberculose est une maladie nécrosante. La maladie résulte de la multiplication des bactéries. Celle-ci est lente et est maximale dans les organes riches en dioxygène. La multiplication peut-être extracellulaire ou intracellulaire.

- **Primo-infection :**
 - **Chancre d'inoculation :**

Les bacilles inhalés, par l'intermédiaire des gouttelettes, se fixent dans un lobe pulmonaire, c'est le chancre d'inoculation. La réaction inflammatoire amène des macrophages dans lesquels les bacilles vont se multiplier. Le bacille provoque l'inhibition de la fusion entre phagosome et lysosome. Il est aussi capable de limiter l'acidification due à la pompe à protons du phagosome.

Dans 90% des cas, les lymphocytes détruisent la majorité des macrophages infectés et l'infection s'arrête. Le patient ne développe pas de maladie mais il développe toujours une réaction d'hypersensibilité retardée. Cette réaction est mise en évidence par un test à la tuberculine.

- **Adénopathies :**

Les bacilles vont se disséminer vers les ganglions puis vers l'ensemble de l'individu. Dans tous les cas, le sujet infecté développe une hypersensibilité cellulaire à la tuberculine. Il y a donc activation des lymphocytes T tueurs.

Dans 10% des cas, se développe la maladie. Elle est en générale provoquée par la multiplication des bacilles de la primo-infection soit directement soit après un temps de latence.

- **Formation de follicules :**

La multiplication provoque une destruction tissulaire et une inflammation. Les macrophages activés se transforment en cellules multinucléées qui entourent le chancre d'inoculation formant un follicule ou granulome où a lieu la « caséification » sous l'action du TNFalpha. L'ensemble des follicules forme une formation tuberculoïde visible macroscopiquement. Les follicules s'entourent d'une capsule.

Les bacilles sont généralement tués, en particulier par manque d'oxygène, mais peuvent rester à l'état quiescent dans les follicules, situation relativement fréquente avec les pathogènes.

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

- **Maladie :**

Elle correspond au réveil des bacilles quiescent. Chez certains malades, au niveau pulmonaire, le caseum du follicule se ramollit, sous l'action de facteurs inconnus et se déverse dans le tissu pulmonaire créant la caverne.

Les lymphocytes tueurs activés favorisent la destruction des macrophages infectés et accentuent la taille des cavernes. Les bacilles, retrouvant une bonne oxygénation se multiplient activement et en dehors des cellules. La guérison est rare à ce stade et le malade est extrêmement infectieux. Chez 1/3 des malades, la mort survient en quelques années, et le dernier tiers en 10 à 15 ans.

L'immunodépression, et en particulier le SIDA, est un facteur déclenchant et aggravant. Chez les sidéens, l'absence de réaction lymphocytaire T empêche la formation du granulome et limite l'activation des macrophages provoquant une dissémination importante du bacille.

Chez d'autres malades, la stérilisation est totale et la guérison acquise.

2.4. Diagnostic au laboratoire :

Il se fait sur des prélèvements, à la demande spécifique du clinicien. Les prélèvements les plus courants sont l'expectoration, les urines, les LCR et les pus.

- **Examen direct :**

On effectue une coloration de Ziehl ou/et à l'auramine.

S'il y a présence de BAAR, il y a des Mycobactéries. S'il y a absence de BAAR, cela ne veut pas dire que l'individu n'a pas de tuberculose (car pauvre en bacille tuberculeux).

- **Mise en culture :**

En cas de négativité, au bout de trois semaines, on conserve la culture 8 à 10 semaines avant d'affirmé la négativité. On peut faire la culture en milieu liquide.

Les milieux liquides disponibles sont :

- **Le milieu de Middlebrook :**

Lorsque les Mycobactéries vont cultivés, elles vont dégradées l'acide Palmitique marqué, ce qui va libérer dioxyde de carbone radioactif. Ce dégagement est apprécié par un automate.

- **Milieu MGIT :**

Le signal de croissance est l'apparition d'une fluorescence sous l'effet de la réduction du taux de dioxygène.

On effectue une subculture pour obtenir des colonies et on peut effectuer directement les tests d'hybridations avec des sondes spécifiques.

- **Identification biochimique :**

Pour réaliser l'identification à partir des colonies, on observe la morphologie de celle-ci. Si elles sont non pigmentées, on réalise l'hybridation avec une sonde spécifique du complexe tuberculosis.

On utilise une sonde ADN conjuguée à un marqueur chimioluminescent. Cette sonde est complémentaire de l'ARN ribosomal de la bactérie. Ce test ne permet pas de différencié les espèces du complexe tuberculosis entre elles. Il se réalise en deux heures sur des cultures en milieu solide ou liquide. Il faut avant tout réaliser une extraction d'ARN.

Pour différencier les espèces au sein du groupe tuberculosis, il est nécessaire de réaliser des tests biologiques.

- **Amplification génétique :**

Elle est utilisée pour les bactéries à croissance lente. Elle n'est validée que dans le cadre de recherche, dans les sécrétions pulmonaires. Cette identification passe par l'amplification de séquence suivie d'une hybridation.

2.5. Etude de l'hypersensibilité spécifique :

Elle est à la base de la vaccination par le BCG lorsqu'une personne a été immunisé par le BCG, on observe, après une injection de tuberculine, une réaction locale d'hypersensibilité. Cette réaction immunitaire est une réaction à support cellulaire et on observe une zone rouge au point d'injection de la tuberculine.

Le test se mesure en mesurant le diamètre du bouton. En fonction du diamètre mesuré, on détermine si la personne est vaccinée ou et en train d'être développée.

2.6. Sensibilité aux antibiotiques :

En première intention, on teste l'Isoniazide, la Rifampicine, l'Ethambutol et la Streptomycine.

- **La résistance :**

Dans une population importante de *Mycobacterium tuberculosis* et avant tout contact avec un antituberculeux, il existe quelques rares mutants qui sont résistants. Il est donc obligatoire d'associer plusieurs antibiotiques afin d'éviter la sélection de mutants résistants.

Lorsque des sujets font une tuberculose avec des bacilles déjà résistants, on parle de résistance primaire. La multirésistance de *Mycobacterium tuberculosis* se définit comme une résistance conjointe à l'Isoniazide et à la Rifampicine.

- **L'antibiogramme :**

Il repose sur la méthode des proportions pour les méthodes phénotypiques. Ce qui différencie une souche sensible d'une souche résistante c'est le pourcentage de mutants résistants au sein de la souche. Au-delà d'un certain seuil de mutant, on dit que la bactérie est résistante ? La lecture consiste à compter le nombre de colonies se développant. Les résultats sont obtenus en 4 à 6 semaines. En générale, au-delà de 1% de résistance, la souche est résistante.

Il existe des techniques automatisées qui sont des techniques en milieu liquide. Elles sont aussi basées sur le principe des proportions.

Il existe des méthodes génotypiques. Elles permettent de repérer des mutations sur des gènes.

La détermination de cette résistance nécessite trois étapes :

- Extraction de l'ADN.
- Amplification du gène recherché.
- Comparaison du gène obtenu avec le gène sauvage.

Il y a 5 sondes pour la souche sauvage et 4 sondes avec quatre gènes mutants.

- **Traitement curatif :**

Il se fait par administration orale, quotidienne, d'une association d'Isoniazide et de Rifampicine, pendant 6 mois.

Pendant les deux premiers mois, on rajoute le Pyrazinamide et l'Ethambutol.

Il existe une tuberculose ganglionnaire que l'on traite pendant 9 mois. Dans le cas d'une tuberculose osseuse ou méningée, on traite pendant 12 mois.

- **Prophylaxie :**

Vaccination par le BCG. C'est une souche de *Mycobacterium bovis* dont la virulence a été perdue lors de repiquage successifs. Les propriétés antigéniques ont été conservées. Cette vaccination entraîne un état d'hypersensibilité spécifique et un état d'immunité à l'infection. La protection s'exerce sur toutes les formes de tuberculoses. La protection est efficace à 80% et dure au moins 15 ans.

3° Mycobacterium bovis :

C'est un bacille tuberculeux. Il est principalement responsable de la tuberculose bovine mais, il peut y avoir une transmission à l'homme par voie digestive.

Il pousse plus lentement et donne des colonies dysgoniques, petites, lisses, non pigmentées.

4° Infections dues aux Mycobactéries atypiques :

4.1. Habitat et pouvoir pathogène :

Ce sont souvent des commensales. On les retrouve aussi dans l'environnement. Ils peuvent contaminer le matériel médical.

Pour pouvoir être sûr de la pathogénicité de la Mycobactérie, il faut qu'elle soit isolée plusieurs fois.

On les isole au niveau :

- **Pulmonaire :**
 - Kansasii.
 - Intracellulaire.
 - Avium.
- **Ganglionnaire :**
 - Avium.
- **Cutanée :**
 - Ulcerans.
- **Pus d'abcès :**
 - Fortuitum.

4.1.1. Mycobacterium avium et intracellulaire :

On les retrouve dans les systèmes de distribution d'eau chaude. On observe, chez certains patients, des colonisations au niveau digestif et respiratoire. Rarement pathogène pour l'immunocompétent.

Le système Isolator consiste à lyser les cellules sanguines avec de la saponine et l'on centrifuge pour récupérer les Mycobactéries. C'est un système de lyse-centrifugation.

4.1.2. Mycobacterium ulcerans :

Il est à l'origine d'ulcères cutanés.

4.2. Identification :

Voir fiche pratique.

5° Mycobactérium leprae :

C'est un BAAR. Il ne cultive pas.

Le diagnostic repose sur un examen microscopique des lésions cutanées et on exprime le résultat en nombre de bacille/champs.

Elle se caractérise par des lésions cutanées qui s'ulcèrent.