

MYCOBACTÉRIES

La famille des *Mycobacteriaceae* de l'ordre des **Actinomycetales** ne comprend que le genre *Mycobacterium* dans lequel on distingue les espèces suivantes :

groupe "tuberculosis"

Mycobacterium tuberculosis
Mycobacterium africanum
Mycobacterium bovis
B.C.G.

les "atypiques"

Mycobacterium kansasii
Mycobacterium marinum
Mycobacterium gordonae
Mycobacterium xenopi
Mycobacterium avium-intracellulare
Mycobacterium scrofulaceum
Mycobacterium ulcerans
Mycobacterium fortuitum
Mycobacterium malmoense

Mycobacterium leprae

Structure chimique

Les mycobactéries retiennent les colorants malgré l'action combinée d'acides dilués et d'alcool. Cette caractéristique, appelée **alcoolo-acido résistance**, est due à la richesse de leur paroi en lipides. Elle est mise à profit pour la coloration différentielle de **Ziehl-Neelsen**.

Cette paroi comprend :

- du peptidoglycane
- des lipopolysaccharides constitués principalement de mycolate d'arabino-galactane (l'arabino-galactane est un haptène, l'acide mycolique est une très grosse molécule d'acide gras)
- des cires dont certaines constituent l'adjuvant de Freund
- le cord-factor (dimycolate de tréhalose) responsable d'un assemblage filamenteux en forme de corde des cultures en milieu liquide et stimulant l'immunité
- les mycosides (glycolipides et peptidoglycolipides) dont les constitutions, variables selon les espèces et les souches, en font des marqueurs épidémiologiques.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Principal agent de la tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, dénommé **bacille de Koch** ou **BK**, est un pathogène strict de l'homme.

Morphologie

C'est un fin bacille assez long (2 à 5 µm), légèrement incurvé. Il a la structure d'un Gram + mais est difficilement colorable par cette technique. Pour l'observer au microscope, il faut avoir recours à des méthodes révélant son alcool-acido résistance qui est une propriété commune à toutes les mycobactéries (coloration de Ziehl-Neelsen, coloration à l'auramine).

Culture

Il cultive très lentement (le temps de division est de vingt heures) en aérobiose à 36°C et exige des milieux spéciaux.

Le milieu le plus utilisé est le milieu à l'oeuf de **Loewenstein-Jensen** qui contient en outre des sels minéraux, de la glycérine, de l'asparagine, de la fécule de pomme de terre et du vert malachite.

Les colonies apparaissent en quinze jours ou trois semaines et sont caractéristiques, rugueuses et verruqueuses, de couleur beige, eugoniques, « **en chou-fleur** ».

Caractères biochimiques

Des caractères biochimiques et enzymatiques permettent l'identification au sein du genre de l'espèce *M. tuberculosis* :

- production d'acide nicotinique ou niacine
- présence de nitrate réductase, de catalase et d'uréase
- résistance à l'hydrazide de l'acide thiophène 2 carboxylique ou TCH
- sensibilité au pyrazinamide

Vitalité - Résistance

Le BK est sensible à la chaleur, à la lumière du soleil, aux U.V. et aux rayons X.

Il résiste au froid et à la dessiccation, aux désinfectants et détergents

Il est sensible à l'alcool à 70°.

Pouvoir pathogène : la tuberculose (MDO)

L'atteinte pulmonaire est la plus fréquente et se manifeste sous forme de :

- primo-infection latente
- primo-infection patente
- forme cavitaire commune
- pleurésie
- formes médiastinales
- forme miliaire

Les atteintes extra-pulmonaires plus rares

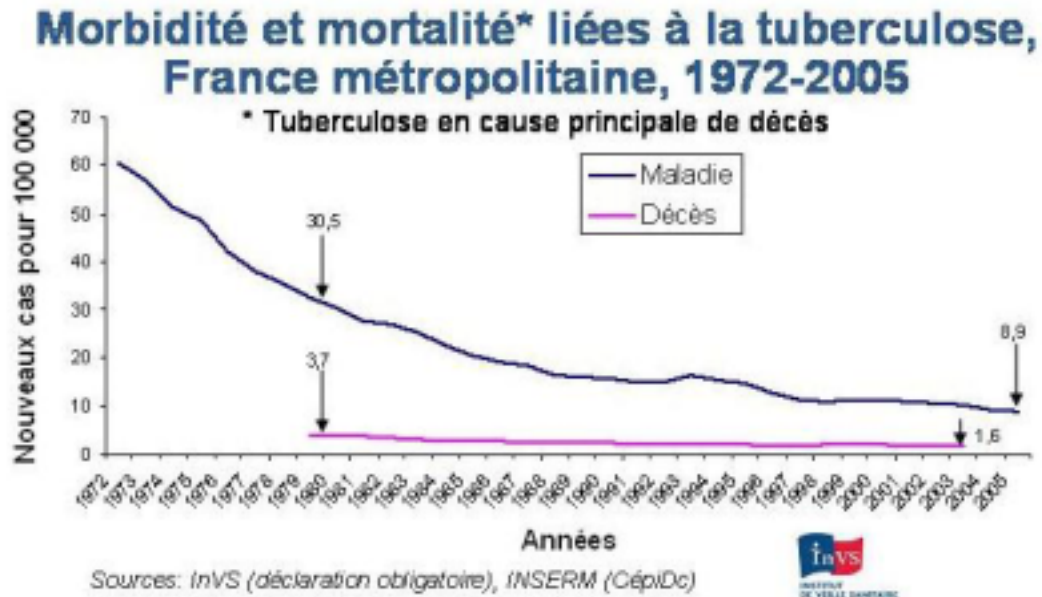
- ganglionnaire, osseuse, articulaire, méningée, rénale, surrénale, digestive, génitale.

Il faut distinguer l'infection tuberculeuse démontrée par le virage spontané (hors BCG) de l'intradermo réaction à la tuberculine de la tuberculose-maladie qui donne lieu à des manifestations pathologiques, cliniques ou radiologiques, pulmonaires ou extra-pulmonaires.

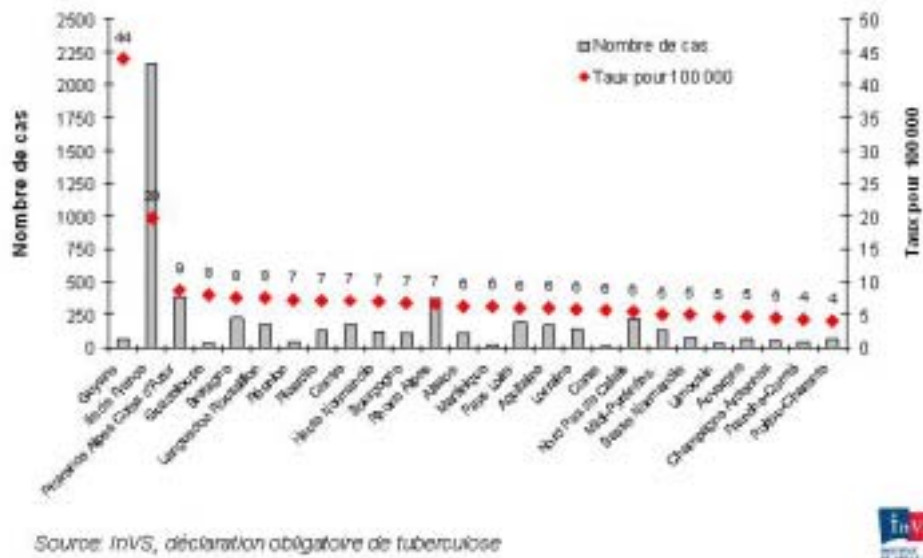
La tuberculose est en France une **maladie à déclaration obligatoire**.

Épidémiologie

En France, l'incidence de la tuberculose décroît, mais le taux d'incidence global cache de fortes disparités régionales, l'Ile-de-France étant la plus touchée, comme le montrent les [données épidémiologiques fournies par l'Institut National de veille Sanitaire \(INVS\)](#).



Cas déclarés de tuberculose maladie par Région, 2005 (Nombre de cas et taux)



Le nombre de souches polyrésistantes aux antibiotiques augmente et la tuberculose constitue encore actuellement en France un problème de santé publique alors qu'on avait espéré une éradication prochaine autour des années 1990.

Dans les pays en voie de développement, les statistiques concernant la surveillance épidémiologique sont moins bien établies mais les taux d'incidence estimés sont beaucoup plus élevés (jusqu'à 200/100.000), surtout dans les régions à forte prévalence d'infection par le VIH.

Tuberculose et VIH

La pandémie d'infections par le VIH a favorisé la recrudescence de la tuberculose. On constate que 16% des tuberculeux sont VIH+ et on estime que 8% de sujets VIH+ feront une tuberculose.

Si, après une primo-infection tuberculeuse, 3 à 5% des sujets développent, au cours de leur vie, une tuberculose maladie, cette proportion passe à 30% chez les sujets infectés par le VIH. La tuberculose survient souvent assez tôt au stade de l'ARC (*AIDS-related complex*) et elle est alors la conséquence d'une réactivation endogène du BK dont le portage peut être ancien.

Lorsque l'infection tuberculeuse survient après l'infection par le VIH, le risque d'évolution rapide vers la tuberculose-maladie est très augmenté.

La localisation de la maladie est souvent mixte, pulmonaire et extra-pulmonaire.

Chez les sujets atteints de sida, au stade plus tardif de l'infection, les mycobactérioses à mycobactéries atypiques (*Mycobacterium avium-intracellulare*) sont plus fréquentes.

Le traitement par antibiotique est efficace et la tuberculose est curable chez les sujets VIH positifs. Un traitement préventif par isoniazide est même préconisé dans les pays en voie de développement en particulier.

Pouvoir pathogène expérimental

Le cobaye est très sensible au BK et fait une tuberculose généralisée qui le tue ; le lapin guérit ; le singe en captivité est très sensible et ne résiste pas. Les bovidés ne sont pas réceptifs à *M. tuberculosis*.

Physiopathologie

La transmission est essentiellement interhumaine. La source de contamination est le tuberculeux pulmonaire dont l'expectoration est riche en mycobactéries. Amené par les gouttelettes de Pflügger, le BK est inhalé et vient se loger dans une alvéole où il est phagocyté par les macrophages. Certains restent sur place, d'autres sont véhiculés par voie lymphatique jusqu'aux relais ganglionnaires voisins. Ils se multiplient et deviennent suffisamment abondants, suscitent une réponse immunitaire qui est à l'origine de la formation des tubercules ; lui fait suite la caséification qui correspond à une nécrose solide des tissus où les bactéries se sont développées. Lorsque le caséum se ramollit, la caverne se constitue dans le poumon et s'entoure d'une coque fibreuse la rendant difficilement accessible aux drogues antibacillaires. Une dissémination hématogène est éventuellement responsable de localisations extra-pulmonaires.

Pathogénie

Le BK ne produit pas de toxine et doit son pouvoir pathogène à sa capacité de se multiplier. La lyse des bactéries libère des constituants antigéniques qui suscitent une réaction immunitaire induisant un état d'hypersensibilité à l'origine de la transformation caséuse.

Allergie et Immunité. Phénomène de Koch

La sensibilisation aux produits du BK appelée **allergie tuberculique** est mise à profit à des fins diagnostiques (intradermo-réaction). Elle est révélée par le BK lui-même vivant ou tué mais aussi par ses produits protéiques constituant la tuberculine.

L'immunité n'est jamais totale et constitue plutôt un état de prémunition. Elle n'est induite que par des bactéries vivantes.

L'une et l'autre sont à médiation cellulaire. Les anticorps décelables chez les malades n'ont aucun rôle protecteur.

Le phénomène de Koch fournit une illustration expérimentale de cette particularité.

L'inoculation de BK vivants à un cobaye sain provoque une tuberculose généralisée mortelle en trois mois. Si cette première inoculation est suivie, après quelques semaines, d'une deuxième dose, on voit apparaître, au point d'injection, une ulcération inflammatoire suivie d'une nécrose et d'une cicatrisation de la lésion. Cet effet est également obtenu si on injecte de la tuberculine.

Diagnostic biologique

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

- Les prélèvements

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

- Méthodes classiques

- **Examens optiques**

Recherche du BK au microscope après coloration de Ziehl ou coloration à l'auramine sur des étalements du produit pathologique effectués directement ou après homogénéisation.

Coloration de Ziehl-Neelsen.

Après action de la fuchsine à chaud (technique rapide) ou à froid (technique lente), on traite la préparation par l'acide nitrique puis par l'alcool. Tous les éléments non alcoolo-acido résistants sont alors décolorés. On surcolore le fond par le bleu de méthylène et les bacilles alcoolo-acido résistants (BAAR) apparaissent en rouge sur fond bleu.

Si on remplace la fuchsine par de l'auramine, qui est un composé fluorescent, les BAAR apparaissent, en lumière ultraviolette, brillants sur un fond sombre et sont de ce fait plus facilement détectables.

- **Culture**

Elle est indispensable. On ensemence le produit, éventuellement concentré et décontaminé (homogénéisation) sur milieu de Loewenstein.

- **Inoculation au cobaye**

méthode pratiquement abandonnée.

- **Identification**

Elle se fonde sur la morphologie, l'aspect des colonies et les caractéristiques biochimiques (niacine, nitrate réductase..)

	PIGMENT		CULTURE				NIAC	CATALASE		NIT	TCH
	P	S	R	E	36°C	42°C		22°C	70°C		
<i>tuberculosis</i>	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+
<i>bovis</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>africanum</i>	-	-	-	-	+	-	V	+	-	V	V
BCG	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>kansasii</i>	+	-	-	+	+	-	-	++	+	+	+
<i>marinum</i>	+	-	+	-	F	-	V	++	F	-	+
<i>gordonae</i>	+	+	-	+	+	-	-	++	+	-	+
<i>xenopi</i>	+	+	-	+	+	+	-	++	+	-	+
<i>scrofulaceum</i>	+	+	-	+	+	-	-	++	+	-	+
<i>avium</i>	-	-	-	+	+	V	-	++	+	-	+
<i>ulcerans</i>	-	-	-	+	-	-	-	++	+	-	+
<i>fortuitum</i>	-	-	+	+	+	+	-	++	+	+	+
<i>smegmatis</i>	-	-	+	+	+	+	-	++	-	+	+

+ = test positif, - = test négatif, v = résultat variable, F = faiblement positif

P = photochromogène, S = scotochromogène, R = colonies R, E = colonies eugoniques, 36°C = culture à 36°C, 42°C = culture à 42°C.

Niac = production d'acide nicotinique, 22°C - active à 22°C, 70°C = active à 70°C, NIT = réduction des nitrates en nitrites,

TCH = culture en présence d'acide thiophène 2 carboxylique.

- **Antibiogramme**

La résistance des BK aux antibiotiques est la conséquence de mutations. Il faut donc détecter, dans la population de bacilles infectant un malade, les mutants résistants à des concentrations d'antibiotiques voisines de celles obtenues *in vivo* au cours des traitements. Si la proportion de mutants résistants dépasse le taux de 1% , le traitement risque d'être inefficace.

- **Autres techniques d'isolement et d'identification**

Le diagnostic biologique d'infection à mycobactéries nécessite donc de long délais. Ces dernières années, des méthodes rapides se sont développées.

- **système biphasique**

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

- **méthode respirométrique**

La détection rapide de la croissance fondée sur la mesure du taux de CO₂ produit par le métabolisme bactérien en utilisant une méthode radiométrique ou photométrique se fait en une quinzaine de jours. Cette technique peut être utilisée pour réaliser les antibiogrammes.

- **méthode chimique**

Une méthode chromatographique analyse les acides mycoliques de la paroi dont le profil est caractéristique des différentes espèces.

- **amplification par PCR**

Directement applicable sur les prélèvements, cette méthode se réalise en plusieurs étapes : lyse des bactéries, extraction et dénaturation des ADN, amplification d'une séquence de l'ADN bactérien et révélation par hybridation avec une sonde marquée. La technique est très sensible et permet un diagnostic en quelques heures.

- **Des techniques rapides sont également utilisables pour identifier une souche isolée**

- Hybridation de l'ADN et de l'ARN bactérien avec une sonde marquée
- Détection de l'acide tuberculostéarique par chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse.

- **Méthodes immunologiques**

La détection d'antigènes mycobactériens s'est révélée décevante à cause de nombreuses réactions croisées. L'amélioration des connaissances sur ces antigènes et la production d'anticorps monoclonaux plus spécifiques permettent d'espérer des performances améliorées.

La mise en évidence d'une allergie tuberculique par des tests cutanés est connue et appliquée depuis longtemps. Elle détecte les sujets sensibilisés, malades ou non.

Le sérodiagnostic par hémagglutination passive mis au point en 1948 par Middlebrook et Dubos n'a guère été utilisé en raison de son manque de sensibilité et de spécificité. L'utilisation de préparations antigéniques purifiées n'ont amélioré ni la sensibilité ni la spécificité de la méthode : il n'y a pas de sérodiagnostic fiable de la tuberculose actuellement.

Traitement

Le traitement de la tuberculose a été totalement transformé par l'apparition des antibiotiques. Il est mis en route dès que le diagnostic est posé et est réévalué dès que parviennent les résultats de l'antibiogramme, qui est fait systématiquement est teste en priorité les antituberculeux suivants :

Isoniazide (INH) Rifampicine Pyrazinamide Ethambutol Streptomycine

Pour éviter la sélection de mutants résistants, une polyantibiothérapie s'impose.

Des préparations galéniques associant différents produits (rifampicine + isoniazide + pyrazinamide ou rifampicine + isoniazide) sont disponibles : elles diminuent le nombre de comprimés à prendre chaque jour.

Des schémas de traitement ambulatoires de six mois sont actuellement appliqués : trithérapie (isoniazide, rifampicine et pyrazinamide) pendant 2 mois suivie d'une bithérapie (isoniazide-rifampicine) de 4 mois.

Le repos et la cure sanatoriale ne sont plus indiqués, pas plus que l'arrêt de travail. Ils sont remplacés par une surveillance clinique, radiologique et bactériologique de l'efficacité du traitement. Une courte hospitalisation de quinze jours est souhaitable pour confirmer le diagnostic et commencer le traitement, qui supprime le risque de contagion.

La primo-infection tuberculeuse symptomatique doit être traitée par une cure complète de 6 mois. La primo-infection asymptomatique est traitée chez l'enfant et l'adolescent mais pas chez l'adulte sauf contexte épidémiologique particulier.

En outre, la chimioprophylaxie est recommandée chez tout sujet en contact étroit avec un tuberculeux contagieux. Les modalités classiques de cette chimiothérapie comportent une monothérapie par INH pendant six mois.

L'écueil essentiel des traitements antituberculeux est la non-observance.

Les tuberculoses à BK multirésistants, encore rares en France, nécessitent évidemment des adaptations thérapeutiques.

B.C.G.

C'est une souche de *Mycobacterium bovis* repiquée par Calmette et Guérin sur pomme de terre biliée. Après 230 passages elle a perdu tout pouvoir pathogène pour les animaux et a été utilisée chez l'homme depuis 1921 comme vaccin antituberculeux.

Les colonies de B.C.G. apparaissent sur milieu de Loewenstein en deux à quatre semaines. Les colonies sont rugueuses, eugoniques mais plus étalées que celles du BK. En outre, des caractères biochimiques l'en différencie : pas de production de niacine, absence de nitrate réductase mais présence de catalase. A l'opposé du BK, le B.C.G. résiste au pyrazinamide mais pas au TCH. Il est en outre résistant à la cyclosérine, ce qui le différencie de Mycobacterium bovis.

Les recommandations concernant la vaccination ont été modifiées du fait de la régression de l'incidence globale de la tuberculose en France, mais de son augmentation dans les populations originaires d'un pays de forte endémie tuberculeuse : l'obligation vaccinale par le BCG a été levée en juillet 2007 mais le BCG reste fortement recommandé dès le premier mois de vie pour les enfants à risque, notamment ceux provenant d'un pays de forte endémie ou dont les parents sont originaires d'un tel pays. Une recommandation de vaccination généralisée des nourrissons est maintenue pour les régions à haut risque que sont l'Île-de-France et la Guyane.

(voir le texte complet dans le B.E.H consacré au calendrier vaccinal 2007 :

http://www.invs.sante.fr/beh/2007/31_32/beh_31_32_2007.pdf)

MYCOBACTÉRIES ATYPIQUES

Ce sont des mycobactéries n'appartenant ni au "groupe tuberculosis" (*M. tuberculosis*, *africanum*, *bovis*, B.C.G.) ni à l'espèce *leprae*.

Elles sont présentes dans l'environnement et chez les animaux et se comportent chez l'homme comme des opportunistes. Elles sont la cause de **mycobactériose**.

Pouvoir pathogène

Les mycobactéries atypiques sont responsables de pathologies variées, pulmonaires, cutanées, ganglionnaires, septicémiques selon les espèces en cause.

<u>ESPECES</u>	<u>INFECTIONS...</u>
<i>kansasii</i>	respiratoires
<i>xenopi</i>	respiratoires
<i>avium intracellulare</i>	disséminées (associées au SIDA)
<i>scrofulaceum</i>	ganglionnaires
<i>marinum</i>	cutanées
<i>fortuitum et chelonai</i>	cutanées
<i>ulcerans</i>	ulcérations dermo-nécrotiques (pays tropicaux)

Les mycobactéries atypiques occasionnent des surinfections chez les malades atteints de sida avéré aux stades tardifs. (contrairement à *M. tuberculosis*)

Comme *M. tuberculosis*, les mycobactéries atypiques peuvent être à l'origine d'**infections nosocomiales**. Les épidémies sont généralement liées à un défaut de stérilisation du matériel. (*M. xenopi*).

Diagnostic biologique

Il se fonde sur la mise en évidence de la bactérie (alcoolo-acido résistance et culture) et son identification d'après la morphologie et l'aspect des cultures et surtout d'après les caractères biochimiques décrits plus haut.

Des sondes géniques permettent l'identification rapide de certaines espèces (*gordonae* et *avium-intracellulare*)

Les résultats doivent être interprétés en tenant compte du contexte clinique car ces bactéries sont des opportunistes et leur isolement peut être le fait d'une simple contamination.

Traitement

Les mycobactéries atypiques sont souvent plus résistantes aux antituberculeux que *M. tuberculosis* mais certains antibiotiques non spécifiques ou sulfamides peuvent être actifs (clarythromycine, amikacine, fluoroquinolones, rifabutine). La sélection facile de mutants polyrésistants impose, dans tous les cas, une polychimiothérapie éclairée par les données de l'antibiogramme.

MYCOBACTERIUM LEPRAE

Découvert par HANSEN en 1873, *M. leprae* est l'agent responsable de la lèpre, qui sévit principalement en zone inter-tropicale.

Pouvoir pathogène : la LEPRE (MDO)

La lèpre peut se présenter sous deux formes :

- la lèpre tuberculoïde, peu contagieuse, caractérisée par une atteinte cutanée et nerveuse d'évolution lente.
- la lèpre lépromateuse, très contagieuse, caractérisée par des atteintes cutanéomuqueuses et osseuses très mutilantes

Diagnostic biologique

Le bacille de la lèpre n'est pas cultivable. Le diagnostic clinique peut être confirmé par un examen histologique : présence sur les frottis colorés par le Ziehl-Nelsen de petits amas arrondis de bacilles intracellulaires, les globi..

Traitement

Après les sulfones, le traitement fait actuellement appel à la rifampicine et à la clofazimine.