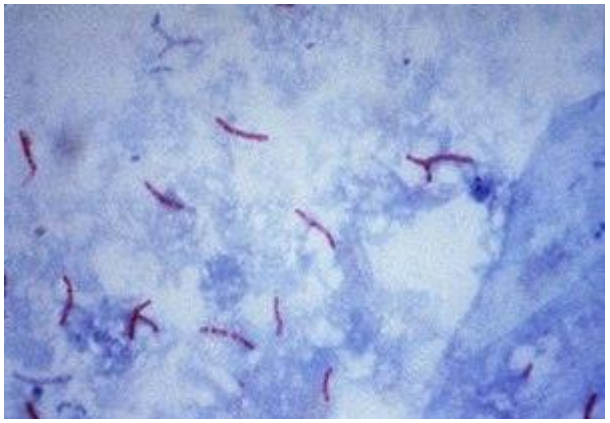
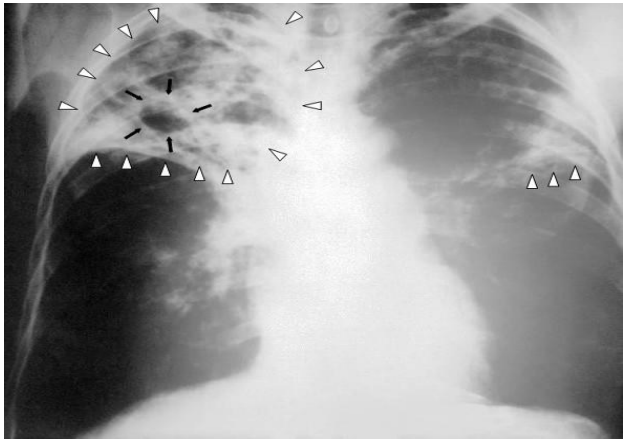
LES MYCOBACTÉRIES

Historique

- La tuberculose existe au moins depuis 120 siècles.
- Elle était reconnue par les médecines grecque, chinoise, égyptienne et indienne.
- Hippocrate décrit des tubercules, des ulcérations et des pleurésies ainsi que les premiers « traitements ».





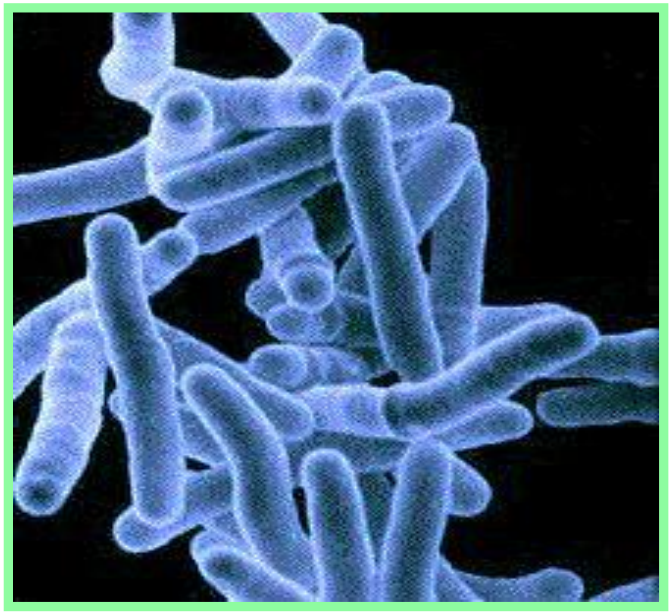
Paroi des mycobactéries

Le genre Mycobacterium appartient à :

- Famille des Mycobacteriaceae

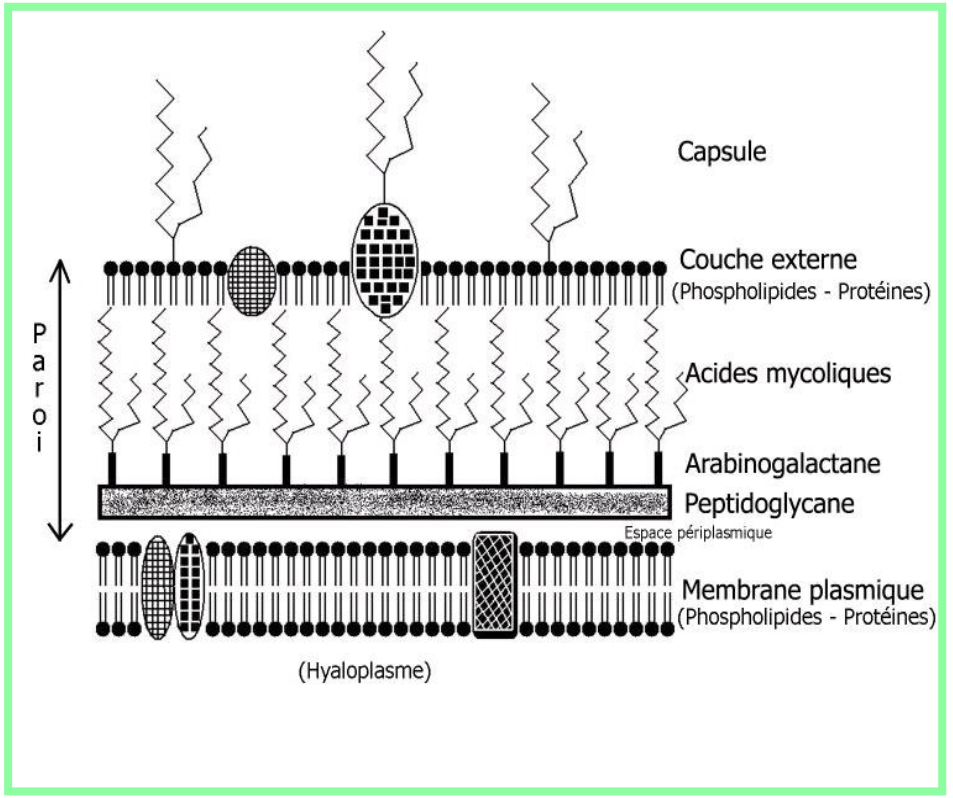
- Ordre:Actinomycétales

- **Définition classique du genre:**
  - -Forme bacillaire
  - -Aérobie strict
  - -Immobile
  - -Non sporulé
  - -Non capsulé
- **Définition actuelle**
  - -Contenu en guanine et cytosine 61-71%
  - -Structure de l'Acide mycolique
  - -Acido-alcoolo -résistance



Paroi des mycobactéries

- Membrane cytoplasmique
- Peptidoglycane:polymère de La N-acetylglucosamine et N-acetylmuramique
- Acides mycoliques



Classification des mycobactéries

Les Mycobactéries peuvent être classés selon :

- Le temps de génération
- Le pouvoir pathogène naturel
- L’importance médicale

Classification des mycobactéries

1- Classification selon le temps de génération

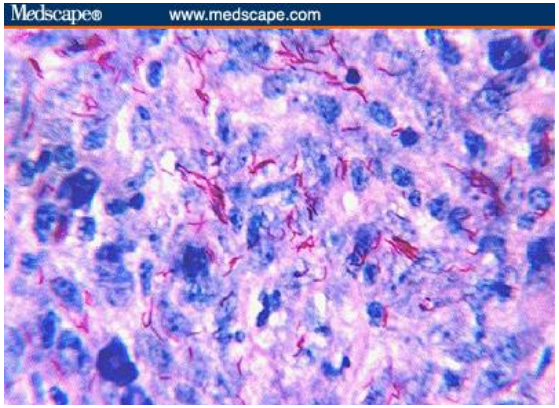
- Espèces à croissance lente : Temps de génération de 16 à 24heures
- Espèces à croissance rapide :TG de 2 à5 heures

2- Classification selon Le pouvoir pathogène naturel:

- **Saprophytes:** *M.aurum*, *M.smegmatis*….
- **Pathogènes opportunistes** : *M.chelonea*, *M.fortuitum*,
- **Pathogènes:** *M.tuberculosis*,*M.bovis*,*M.africanum*,*M.marinum*

Classification des mycobactéries

3- Classification selon l'importance médicale



- Mycobactéries responsables de tuberculose. **Complexe tuberculosis:**

M. tuberculosis, M.bovis, M.africanum.

- Mycobactéries responsables de la lèpre

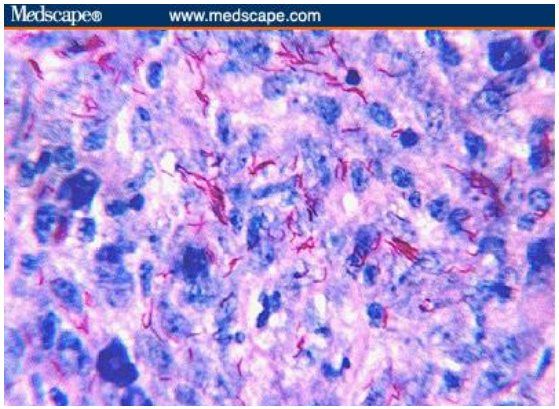
- Mycobactéries de l'environnement (Mycobactéries atypiques)

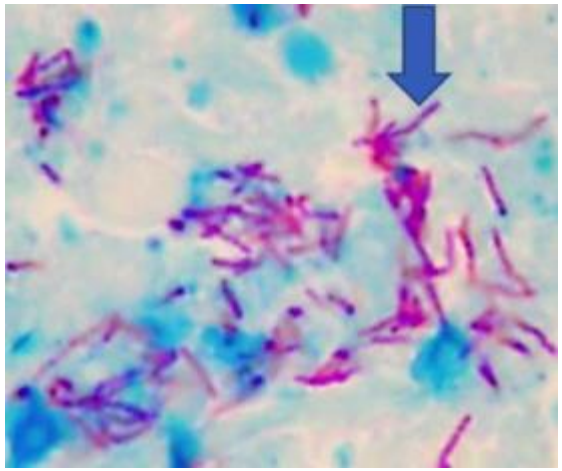
Caractère commun aux Mycobactéries

Le point commun à toutes ces espèces appartenant au genre Mycobacterium, est une propriété tinctoriale mise en évidence par la coloration de

Ziehl-Neelsen:

l'acido-alcoolo-résistance.





MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Mycobacterium tuberculosis

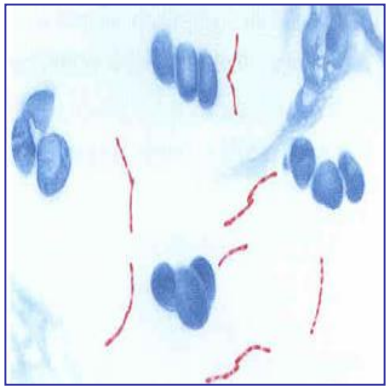
Agent de la tuberculose

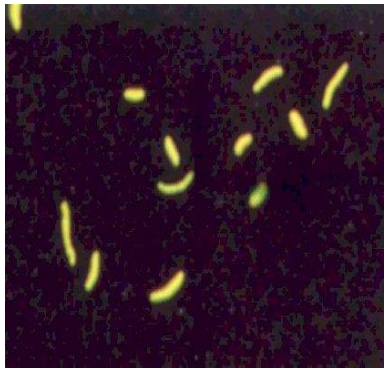
Découvert par Koch en 1882 d'où le nom de bacille de Koch.

I- Caractères bactériologiques:

Morphologie:

- Bacille acido-alcoolo-résistant
- immobile, asporulé, acapsulé
  - Coloration de Ziehl Neelsen
  - Coloration à l'auramine





Mycobacterium tuberculosis

Caractères culturaux

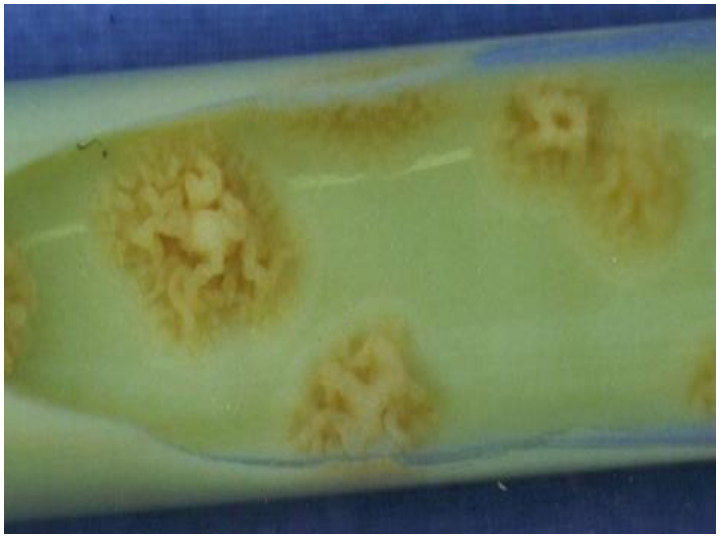
- Aérobie strict
- Température 35C°à 37C°
- pH physiologique est de 6.9
- Pousse lente le temps de division de M.tuberculosis étant de 20heures en moyenne ; les colonies sont visibles en 3 à 4 semaines.
- Germe exigeant ne pousse pas sur les milieux usuels ;le milieu de culture doit contenir une source de carbone (glycérol),source d'acide aminés(asparagine),sels minéraux, oligo-éléments

Mycobacterium tuberculosis

- Isolement de M.tuberculosis In Vitro

- Milieu à l'œuf solide : Milieu de Lowenstein Jensen ,Coletsos, Ogawa
- Milieu gélosé :Milieu de Middelbrook (7H10,7H11)
- Milieu liquide : Sauton

- Les colonies sont caractéristiques sur milieux de Lowenstein Jensen ;ces colonies dites eugoniques en se développant ; prennent un aspect rugueux en chou-fleur de teinte crème beige à chamois(à condition que l'hydratation et l'aération soient satisfaisantes)



Mycobacterium tuberculosis

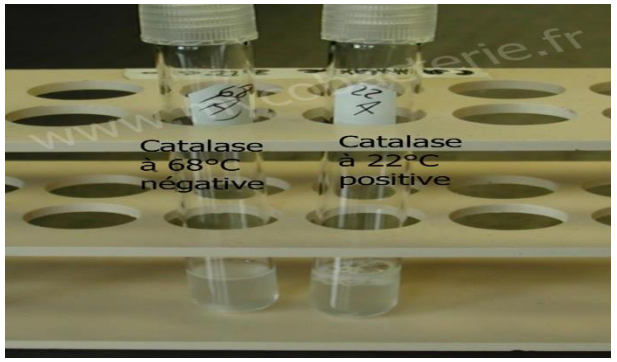
L'identification de l'espèce repose sur:

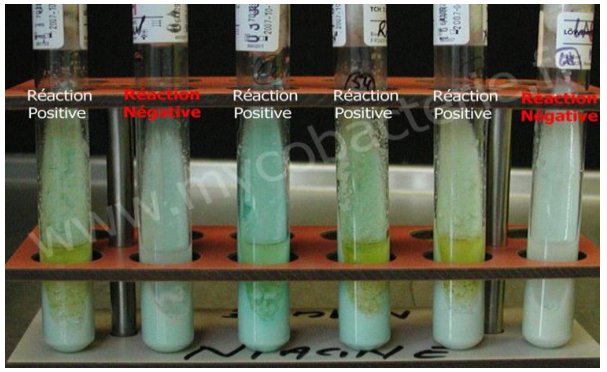
A - Caractères biochimiques:

- ✓ Catalase à 20°C et à 68°C.
- ✓ Nitrate réductase: effectuée sur culture âgée de 3 à 4 semaines.
- ✓ Niacine test (production d'acide Nicotinique) effectué entre le 28e et le 42e jour de culture.

B - Sensibilité à des substances agissant sur le métabolisme:

- ✓ Resistance au TCH.(hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique)
- ✓ Sensibilité au PNB.(acide para-nitro benzoïque)





Viabilité du M.tuberculosis

A - Agents physiques:

- ✓ Sensibles à la chaleur et résistent à + 4°C.
- ✓ Sensibles aux rayons UV.
- ✓ Résistent à la dessiccation (restent virulents dans les gouttelettes de Pfllugge desséchées)

B - Agents chimiques:

- ➢ Les acides et bases détruisent les mycobactéries, mais moins vite que les germes banaux. (Utilisés pour décontaminer des prélèvements)
- ➢ Détruits par l'alcool en quelques minutes .
- ➢ Sensibles à l'action de l'alcool, les mélanges savon-phénol, Nacl, le formaldéhyde, le glutaraldéhyde alcalin.
- ➢ Résistent aux ammoniums quaternaires.

Constitution chimique et antigénique

- Les lipides constituent 60% des constituants de la paroi
- La structure de la paroi est représentée par un peptidoglycane lié d'une manière covalente avec un mycolate d'arabinogalactane

  Autres glycolipides et protéines
- Les cires D :Jouent un rôle dans la virulence
- Cord factor :Jouent un rôle dans la virulence
- Mycosides :Empêche la liaison Phagosome –lysozymes
- Tuberculine injectée à sujet infecté entraîne l'apparition d'induration supérieure à 10 mm HSR

Diagnostic bactériologique

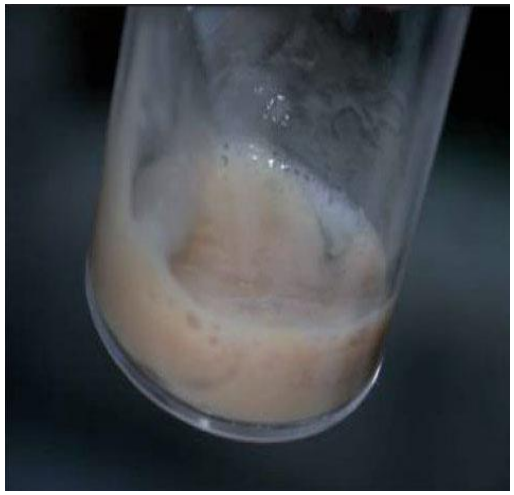
La mise en évidence des bacilles tuberculeux en:

- Microscopie
- Et /ou en culture

Reste le critère essentiel du diagnostic de certitude de la tuberculose quelle soit pulmonaire ou extra pulmonaire

Prélèvements :

Il faut considérer deux types de prélèvements selon le contexte clinique



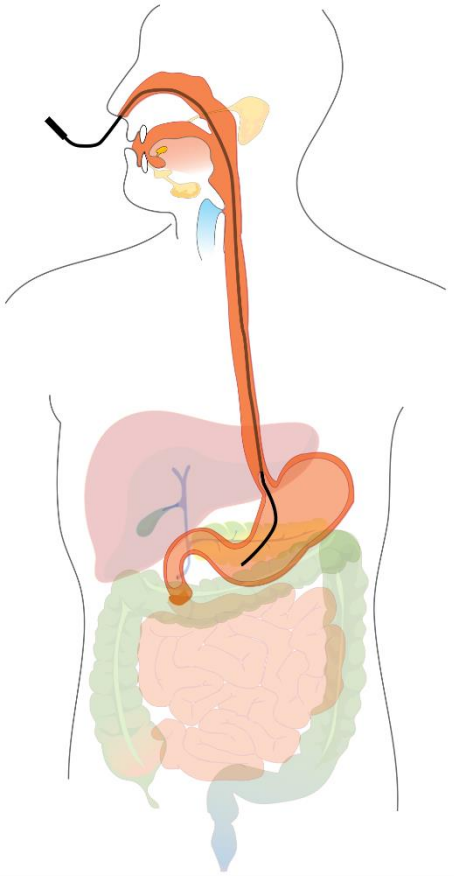
Prélèvements d'origine pulmonaire :

1 Expectoration : +++

- - 1er :Après consultation :échantillon sur place
- -2eme prélèvement matinal chez le patient
- -3eme prélèvement sur place au laboratoire

Prélèvements :

2- Tubage gastrique :



Technique est pratiquée en milieu hospitalier ,elle permet de recueillir les mucosités dégluties pendant le sommeil donc il doit être effectué le matin au réveil avant que les contractions de l'estomac n'en aient chassé le contenu (femme-enfants)

3- aspiration bronchique

4- Écouvillonnage laryngé

Prélèvements :

Les prélèvements d'origine extra pulmonaire :

On distingue deux types de prélèvements

- prélèvements d'origine extra pulmonaire contaminés :

Proviennent des collections purulentes s'écoulant à l'extérieur

- Urines : Les premières urines du matin
- Les pus d'abcès ou du ganglions fistulisés

Tous les autres produits pathologiques prélevés sans précaution d'asepsie

Prélèvements :

Les prélèvements d'origine extra pulmonaire :

- Les prélèvements d'origine extra pulmonaire non contaminés :

Se sont des liquides séreux ou séro-purulent se trouvant dans les cavités fermées recueillis par ponction : LCR, liquide pleural, liquide péritonéale, liquide péricardique……etc

Prélèvements :

2- Fiche de renseignement

soigneusement remplie comportant :nom, prénom, âge, sexe, signes cliniques, nom du médecin traitant ,traitement reçu.

3- Conservation :

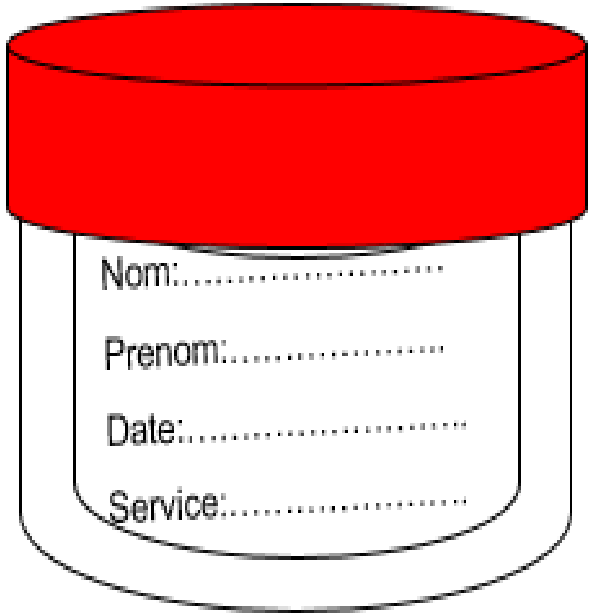
S'il n'est pas possible d'examiner l'échantillon le jour même, on peut le conserver :

- a- Conservation à froid + 4°C (au maximum 10 jours) en attendant le transport (pour éviter le prolifération des bactéries contaminantes)
- b- Conservation chimique au bromure de Cetyl peridinium à 10%.

Prélèvements :

4-Transport des prélèvements :

Les prélèvements sont transportés dans des crachoirs hermétiquement clos et étiquetés et mis dans les ice box ,et doivent être enregistrés sur le cahier du laboratoire



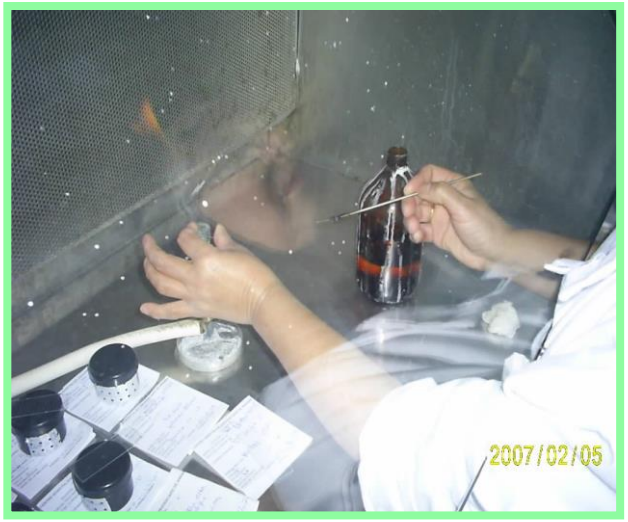
Diagnostic bactériologique classique

1-Les techniques microscopiques :

Confection du frottis : Sur une lame neuve dégraissée portant le numéro du malade ,on choisit une parcelle mucopurulente

et on étale par mouvement circulaire sur environ 2cm de long et 1cm de large ,le frottis doit être séché à l'air libre

Fixation :à l'alcool ou à la chaleur par deux à trois passages sur la flamme du bec bünsen

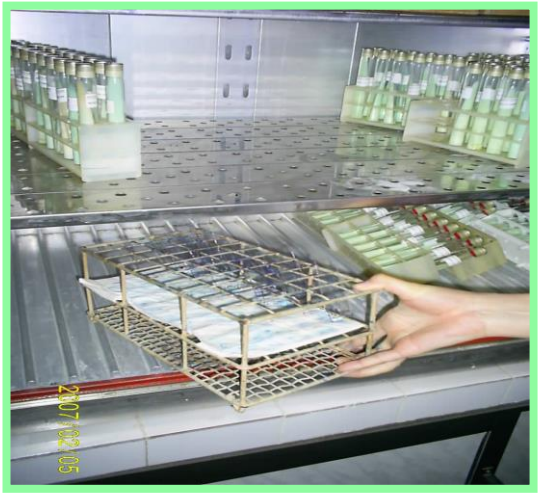


Coloration de Ziehl Neelsen:

le frottis est coloré par la fuschine phéniquée basique à chaud.

Le caractère acido-alcoolo-résistant est recherché par l'alcool puis de acide ,le frottis et ensuite recoloré par une solution diluée de bleu de méthylène.

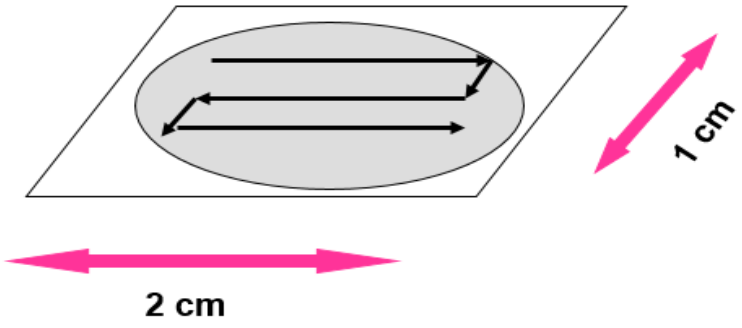
Coloration de Ziehl Neelsen:



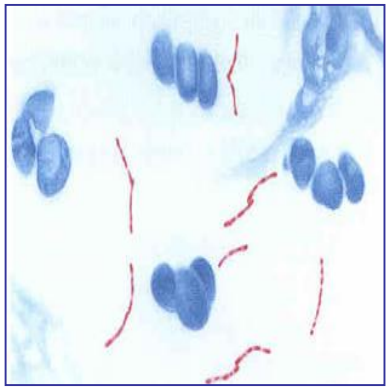
Lecture au microscope

Elle se fait au microscope optique à l'objectif 100 :

les BAAR (bacilles acido _alcoolo _résistants) vont apparaître rouge sur un fond bleu. On fait une lecture en créneau



lecture en créneau

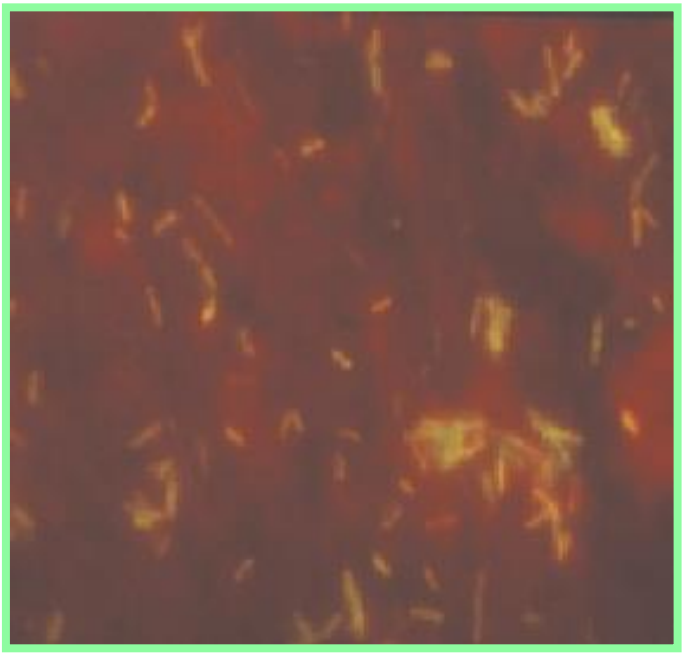


Expression des résultats

Nombre de BAAR	Répondre
0 BAAR / 300 champ	Négatif
1-9 BAAR / 300 champs	Lame douteuse (+/-) à confirmer
10-99 BAAR / 100 champs	Lame faiblement (+) +
1-10 BAAR / 1 champ	lame moyennement positive + +
>10 BAAR / 1 champ	lame fortement positive + + +

Coloration à l’auramine

- Le colorant utilisé est un fluorochrome, le même principe que la coloration de ZN,
- le contre -colorant est le permanganate de potassium qui couvre la fluorescence parasite non émise par le bacille .
- Les bacilles apparaissent comme des bâtonnets très brillants sur un fond noir
- objectif X25 ou X 40



Coloration

NB :

Examens microscopiques des prélèvements autre que le crachat :

- Tubage gastrique :Centrifugation à 3000 tours /min pendant 20 min .une petite parcelle du culot est étalée, colorée et examinée .

- LCR, urine sont pauci-bacillaires : on passe directement à la culture, l'examen direct est aléatoire.

Interprétation

- Un crachat est positif si au moins 02 frottis d'expectorations se révèlent positifs avec présence de BAAR.

NB: Les lames positives à l'auramine doivent être recolorées par le Ziehl-Neelsen.

Culture

BUT:

- ✓ Confirmer le diagnostic posé par la microscopie.
- ✓ Etudier les caractères biochimiques du germe.
- ✓ Diagnostic de la TBC extra pulmonaire dont la microscopie est souvent négative.
- ✓ Tester la sensibilité aux antituberculeux.
- ✓ Suivre l'évolution sous traitement.

Culture

2-Culture

Les prélèvements non contaminés sont ensemencés directement sur milieu de LJ à raison de 2 à 4 gouttes par tube .

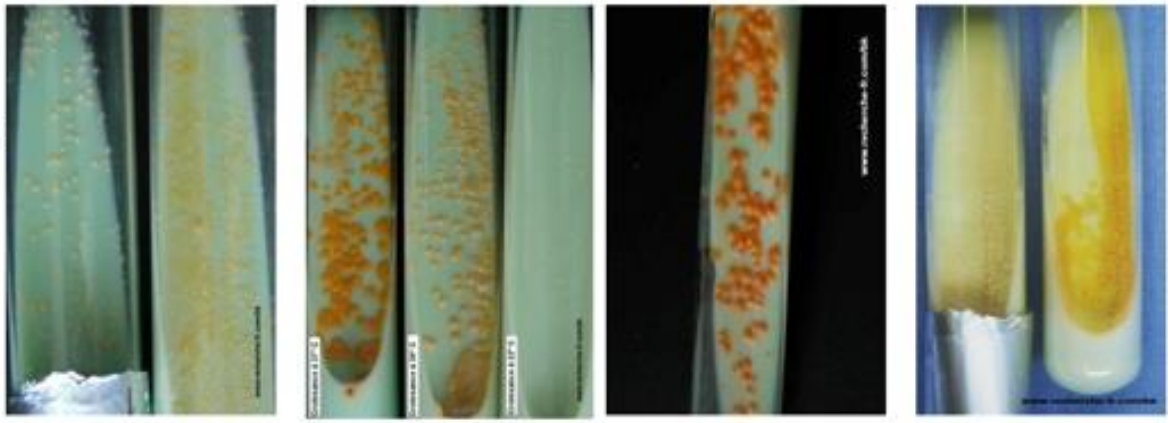
les prélèvements contaminés nécessitent une décontamination préalable avant leur mise en culture ;

plusieurs techniques de décontamination sont proposées toutes basées sur l'utilisation d'une décontamination chimique suivie de neutralisation.

Culture

Une fois les tubes de LJ son ensemencés ils sont incubés à 37°C.

Au bout de 24h à 48h d'incubation ; on examine les tubes pour contrôler la qualité de la décontamination ,ainsi les tubes contaminés sont éliminés ,les autres sont remis à l'étuve.



Photochromogène /Shulgai | shulgaii/T° | gordonae | scotochromogène

Culture

la lecture : à 48 H

- ✓ Vérifier l'absence de contamination,
- ✓ Fermer les tubes et
- ✓ Détecter les mycobactéries a croissance rapide
- ✓ Puis toute les semaines :

❖ Une 1ère réponse: rendue au médecin au 28ème jour.

Culture (+) si colonies typiques eugoniques ,rugueuses, crème beige en chou-fleur. (sinon faire un ziehl)

Interprétation Culture

Dénombrer les colonies si incomptables rendre infini ∞

1- Réponse qualitative : présence.

2- Réponse quantitative : nombre de colonies.

- Une deuxième réponse: Rendue au 42ème jour (si (-) au 28 ème jour)
- Une dernière réponse: Rendue le 72ème jour (si (-) au 28 ème,42 ème jours)

Autres méthodes de diagnostic

1-Détection rapide de croissance par la respirométrie radio métrique (le système BACTEC).

2-Polymerase chain reaction .PCR

3-Inoculation au cobaye

4-Détection de substances chimiques ou antigéniques diverses du *M.tuberculosis*(acide tuberculo-stéarique par chromatographie en phase gazeuse .

5-sérodiagnostic par hemmaglutination.

6-IDR :Injection de la tuberculine.

Traitement

Le traitement de la tuberculose a deux objectifs :

1-Empêcher l'apparition de mutants résistants.

2-Stérilisation :Tuer le maximum de bacilles.

Ces deux objectifs sont remplis par l'utilisation d'une association d'antibiotiques(isoniazide ,rifampicine .pyrazinamide ;ethambutol)

Pour détecter l'apparition des mutants résistants il est recommandé de faire un test de sensibilité qui est surtout indiqué dans la cas de rechute , échec de traitement, et les nouveaux cas s'il existe une notion de contage par un bacille résistant.

Traitement

Catégories de malades		Régimes correspondants
I	*-Les nouveaux cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive* *-Les formes sévères de tuberculose extra pulmonaire* *-Les nouveaux cas de tuberculose pulmonaire à microscopie négative et à culture positive* *-Les nouveaux cas de tuberculose pulmonaire à microscopie positive et à culture non faite ou non disponible.*	*Régime de 1ere ligne 2SRHZ / 4RH ou 2ERHZ / 4RH*
II	*-Sont les reprises évolutives, les échecs et les rechutes de tuberculose pulmonaire observés après une première cure de chimiothérapie, ce sont toujours des cas à bactériologie positive.*	*Régime 2éme ligne 2SRHZE / 1RHZE / 5 RHE*
III	*-Les cas de tuberculose extra pulmonaire simples.* *-Les cas de primo-infection sans atteinte pulmonaire visible à la radiographie du thorax.*	*Régime de 1éree ligne 2RHZ / 4RH*
IV	*-Les cas chroniques et représente les échecs de la catégorie II.*	*Régime de 3éme ligne 3Eth 0KZC/ 18Eth*

Test de sensibilité

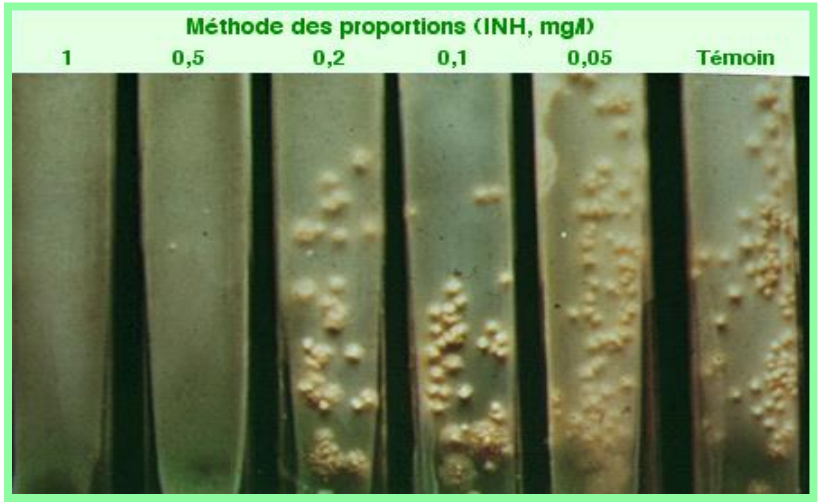
Il existe plusieurs méthodes

-1-Méthodes des proportions :

Milieu de LJ :

*Milieu témoin sans antibiotique : population totale

*Milieu avec concentration connue d' antibiotique .



suspension bactérienne à 10^{6}bacilles/ml :SM

Deux dilutions :10^{-2} et 10^{-4}

$$P\% = \frac{R}{R+S} X100$$

Détermination de proportion bacillaire résistante dans la population totale :

2-Méthode de la concentration absolue.

3-Méthode de la résistance Ratio.

Prévention

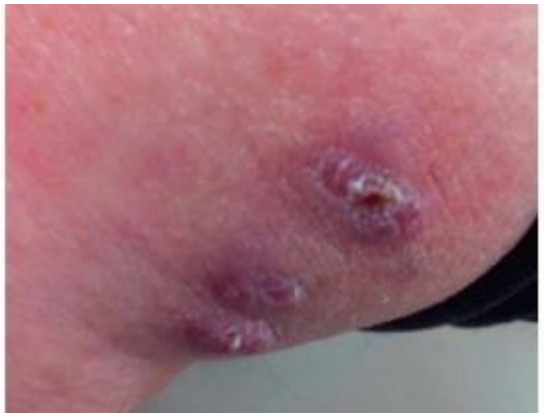
La vaccination à la naissance par un vaccin vivant atténué BCG a été rendue obligatoire en Algérie depuis 1969.

LES MYCOBACTÉRIES ATYPIQUES

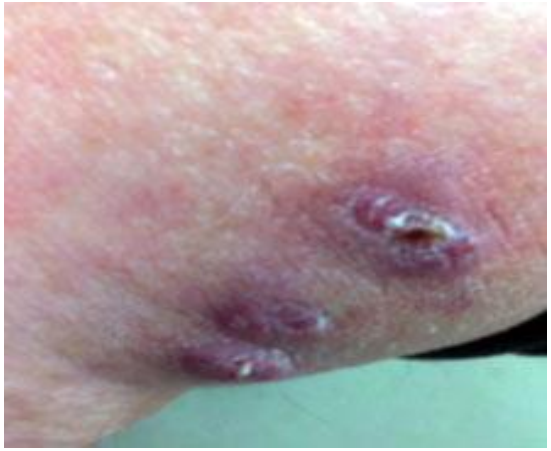
Definition

A coté des mycobactéries tuberculeuses (complexe tuberculosis) qui sont toujours pathogènes pour l'homme ,

il existe des mycobactéries non tuberculeuses dénommées Mycobactéries atypiques qui peuvent être aussi pathogène pour l'homme dans certaines conditions.



https://images.app.goo.gl/sjnKYXN7GRnmdyc56



https://images.app.goo.gl/sjnKYXN7GRnmdyc56

Classification de Runyon

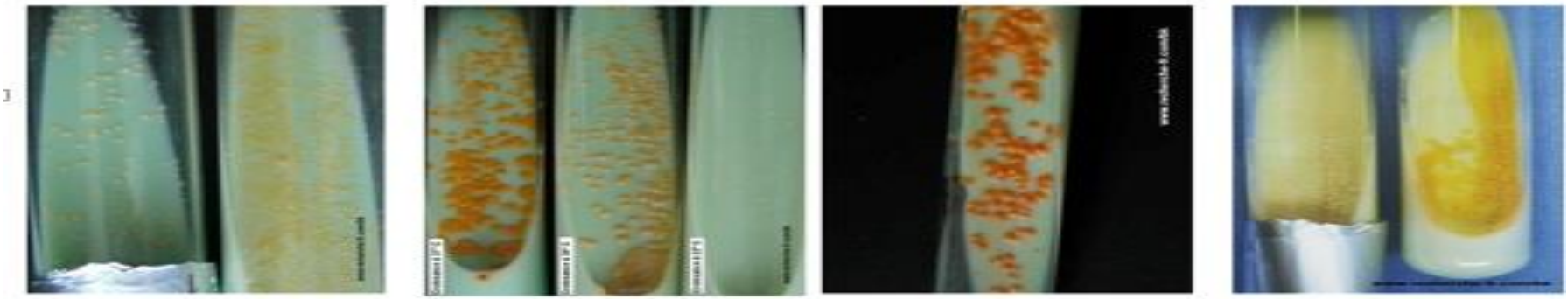
Runyon a classé les mycobactéries atypiques en 4 groupes :

Groupe 1

Les chromogènes ou les photochromogènes qui se pigmentent en jaune après exposition à la lumière solaire .M.kansasii, M.marinum

Groupe2

Les scotochromogènes se pigmentent à l'obscurité de couleur jaune orange. *M.xenopi ,M.gordonae*



Classification de Runyon

Groupe 3

Les non chromogènes ou non photochromogènes ou achrogènes , apigmentées de couleur beige crème :*M.avium*. *M.intracellulare*.

Groupe 4

les mycobactéries à croissance rapide elles poussent entre 3 à 5 jours et dont la pigmentation varie selon les espèces .

M chelonae

Épidemiologie

Épidémiologie

Bactéries saprophytes =sol eaux présentes sur peau et muqueuse .

Habituellement non pathogène .certaines opportunistes.

Transmission par voie aérienne ;digestive ou cutanée.

Principaux caractères

1-Caractères communs avec les autres mycobactéries :

-Bacilles acido alcoolo résistance

Caractères différentiels avec les bacilles tuberculeux

- Caractères biochimiques =activité catalasique forte et thermostable
- Résistance aux anti tuberculeux
- Caractères culturaux :pigments, vitesse et température de croissance.
- Présence dans l'environnement (eaux).

Pouvoir pathogène

Facteurs favorisants

Déficit immunitaire thérapeutique (corticoïde) ou pathologique (cancer –sida)

Ancienne caverne tuberculeuse ,fibrose, tabac, BPCO…

Age souvent plus de 50 ans

Clinique

Fièvre

Localisation pulmonaire :-/+ id. tuberculose (cavernes).

Localisation ostéo- articulaire et ganglionnaire, cutanée (VIH)

Agents infectieux les plus fréquents :M.avium, *M.kansasii*, *M.xenopi* …..

Diagnostic des infections à mycobactéries atypiques

Prélèvements :

- Expectoration; tubages biopsies cutanées….
- L'environnement hospitalier : liquide de dialyse, système de distribution d'eau….

- Diagnostic est purement bactériologique. : microscopie et culture .

- Une seule culture positive n'est pas toujours suffisante pour établir le diagnostic