

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

I/ Caractères bactériologiques

1°) Morphologie

Mycobacterium tuberculosis est un bacille fin, légèrement incurvé, de 2 à 5 µm de long sur 0,2 à 0,3 µm de large. Ses extrémités sont arrondies. Il est immobile, acapsulé, asporulé.

M. tuberculosis est difficilement colorable par les colorants usuels. Toutefois coloré par la fuchsine phéniquée à chaud selon la méthode de ZIEHL-NEELSEN, il retient le colorant malgré l'action combinée des acides dilués et de l'alcool et apparaît alors comme un fin bâtonnet rouge.

Coloré par l'auramine phéniquée, il devient fluorescent sous l'influence de la lumière U.V.

Dans les produits pathologiques, il se présente isolée ou en petits amas, parfois sous forme d'ébauches de cordes et de torsades.

Sous l'action des antibiotiques *M. tuberculosis* a un aspect granuleux.

2°) Culture

M. tuberculosis est aérobic strict. La température optimale est de 35 à 37 °C. Le pH des milieux peut être compris entre 4,8 et 8 avec un optimum de 6,7.

M. tuberculosis ne pousse pas sur les milieux ordinaires.

Seuls les milieux de culture qui contiennent du sérum, de la glycérine, de la pomme de terre glycéinée, de l'œuf ou de l'albumine bovine permettent une culture abondante.

On distingue :

- a) Les milieux solides à l'œuf coagulé
 - Le milieu de LÖWENSTEIN-JENSEN, milieu de référence, contient des sels minéraux, de l'asparagine, de la glycérine, du vert malachite et de l'œuf ;
 - Le milieu de COLETSON.
- b) Les milieux solides gélosés : 7H10 et 7H11. Ils contiennent des sels minéraux, du glucose, de l'albumine bovine, des acides aminés, du pyruvate de sodium, de la catalase etc... Ils permettent une bonne croissance de *M. tuberculosis* à condition d'être placés dans une atmosphère contenant 10 % de CO₂.
- c) Les milieux liquides :
 - Le milieu de SAUTON contient des sels minéraux, de l'asparagine et de la glycérine ;
 - Le milieu de YOUNG = milieu de SAUTON + sérum de bœuf ;
 - Le milieu de DUBOS contient des sels minéraux, de la caséine, de l'albumine bovine et du tween 80 ;
 - Le 7H9 : dérivé moderne du milieu de DUBOS.

3°) Caractères biochimiques

M. tuberculosis accumule une importante quantité d'acide nicotinique ou niacine qu'il n'utilise pas.

M. tuberculosis réduit les nitrates en nitrites.

M. tuberculosis a une activité catalasique thermolabile : elle détruite par chauffage à 68 °C pendant 20 min.

M. tuberculosis est résistant à l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique (TCH) et sensible au pyrazinamide.

4°) Structure

- Le peptidoglycane
- Le mycolate d'arabinogalactane : C'est un LPS dont les sucres sont l'arabinose et le galactose. Ces sucres sont attachés à des lipides spéciaux : les acides mycoliques
- Autres glycolipides : Trois autres glycolipides sont associés à la paroi des mycobactéries : ce sont les cires D, le cord-factor et les mycosides. Le cord-factor est un dimycolate de tréhalose. Les mycosides sont des glycolipides et des peptidoglycolipides qui possèdent un saccharide terminal contenant du rhamnose-O-méthylé.

5°) Action des agents physiques et chimiques

M. tuberculosis est très sensible à la chaleur, à la lumière solaire, aux rayons X et U.V. Il résiste au froid et à la dessiccation. Il est résistant aux désinfectants chimiques (H₂SO₄, NaOH, détergents). Il est sensible à l'alcool.

II/ Physiopathologie

1°) Pouvoir pathogène naturel

- Tuberculose pulmonaire
- Formes extra-pulmonaires de la tuberculose : tuberculose ganglionnaire, ostéo-articulaire, rénale, séreuse, méningite, mal de Pott)

2°) Pouvoir pathogène expérimental

Le cobaye est l'animal de laboratoire le plus réceptif à l'inoculation de *M. tuberculosis*. Quels que soient la voie d'inoculation et le nombre de bacilles inoculés, le cobaye fait une tuberculose généralisée, mortelle.

3°) Phénomène de KOCH

L'inoculation sous-cutanée à un cobaye sain de *M. tuberculosis* virulent ne provoque aucune lésion apparente jusqu'au 10-14^{ième} jour. Ensuite un nodule apparaît au point d'inoculation qui s'ulcère et l'ulcération persiste jusqu'à la mort du cobaye

Lorsqu'il s'agit d'un cobaye déjà tuberculeux, une lésion inflammatoire et nécrotique apparaît en 24-48 h, atteint son maximum en 72 h puis régresse et guérit sans que l'évolution de la maladie sous-jacente en soit affectée. La précocité de la lésion traduit l'hypersensibilité. Mais la lésion a besoin de 24 à 72 h pour se produire, délai nécessaire pour que les monocytes et les lymphocytes affluent au point d'inoculation ; il s'agit d'une hypersensibilité de type retardé. On l'appelle allergie tuberculeuse ou hypersensibilité tuberculique. Le caractère transitoire de la lésion est le signe d'une immunité. Puisque celle-ci se manifeste à l'égard des bacilles de réinoculation, l'immunité est dite de surinfection.

III/ Diagnostic

1°) Prélèvements

a) En cas tuberculose pulmonaire

Les crachats sont recueillis dans des flacons propres, mais pas nécessairement stériles. Ne jamais accepter des mucosités salivaires. Si le malade ne crache pas, on peut avoir recours au tubage ou au lavage gastrique, ou encore à l'aspiration bronchique.

b) En cas de tuberculose extra-pulmonaire

Le prélèvement est fait dans des conditions d'asepsie rigoureuse surtout s'il s'agit d'une lésion fermée. La décontamination avant l'ensemencement n'est pas nécessaire.

2°) Mise en évidence des bacilles

a) Examen microscopique

Il est effectué directement sur un frottis du produit pathologique ou après homogénéisation.

L'homogénéisation des produits pathologiques est couplée avec la décontamination précédant la mise en culture.

Après fixation les frottis sont colorés soit par la méthode de ZIEHL-NEELSEN, soit avec un fluorochrome (auramine). Dans les deux cas, les résultats de l'examen microscopique doivent être exprimés quantitativement.

b) Culture

Les produits d'expectoration (crachats, tubages, liquides d'aspiration bronchique), les urines ainsi que les produits pathologiques provenant des cavités ouvertes (adénopathies et abcès fistulisés, pyo-pneumothorax) doivent être décontaminés avant ensemencement.

L'homogénéisation-décontamination est obtenue par l'emploi soit de la soude seule à 4 %, soit d'un mélange de lauryl-sulfate et de soude.

On emploie habituellement le milieu de LÖWENSTEIN-JENSEN, beaucoup plus rarement les milieux gélosés 7H10, 7H11.

c) Identification de *M. tuberculosis*

On vérifie par une coloration de Ziehl-Neelsen que les colonies sont bien constituées de bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) ayant la morphologie de *M. tuberculosis*.

L'identification de *M. tuberculosis* est faite par 3 épreuves biochimiques : la catalase sans et après chauffage à 68 °C pendant 20 min, la réduction des nitrates et l'épreuve à la niacine (test de KONNO).

Principaux caractères différentiels de *M. tuberculosis*, *M. africanum* et *M. bovis*

	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. africanum</i>	<i>M. bovis</i>	B.C.G.
Aspect des colonies sur le milieu de LJ	Eugoniques, rugueuses, en chou-fleur, crème-beige	Dysgoniques, rugueuses, plates, mates	Dysgoniques, lisses, hémisphériques, blanches	Eugoniques, rugueuses, en chou-fleur, crème-beige
Culture en présence de pyruvate	indifférente	stimulée	stimulée	indifférente
Type respiratoire (LEBEK)	aérobie	microaérophile	microaérophile	aérobie
Niacine	+	0 à +	0	0
Réduction des nitrates	+	0 à +	0	0
TCH	R	S	S	S
Pyrazinamide	S	S	R	R
Virulence pour le cobaye	+	+	+	0
Virulence pour le laoin	0	0	+	0

LJ = Löwenstein-Jensen

d) Antibiogramme

L'antibiogramme est pratiqué :

- . Chez les malades atteints de tuberculose évoluant depuis plusieurs années et ayant déjà été longuement traités par les antibiotiques, ces malades sont porteurs d'une résistance acquise aux antibiotiques ; l'antibiogramme est le seul moyen d'identifier les antibiotiques encore efficaces ;
- . Chez les malades qui font une rechute de tuberculose après un premier traitement antibiotique qui a semblé efficace et chez lesquels une résistance bactérienne peut être la cause de la rechute ;
- . Chez les malades qui n'ont jamais été traités, pour déceler une résistance primaire.

Chez tous les sujets, il est indiqué de faire un antibiogramme avant la mise sous traitement.

L'antibiogramme est réalisé en milieu liquide (milieu de YOUMANS, 7H9 sans tween 80) ou en milieu solide (milieu de LÖWENSTEIN-JENSEN).

En pratique on utilise la méthode des proportions. Elle permet de faire un antibiogramme indirect à partir d'un isolement sur milieu de LÖWENSTEIN-JENSEN ou un antibiogramme direct à partir d'un produit pathologique décontaminé suffisamment riche en bacilles.

Antibiotiques	Concentrations (mg/l)	Proportion critique
Isoniazide	0,2	1p.100
Streptomycine	4	1p.100
PAS	0,5	1p.100
Rifampicine	40	1p.100
Ethambutol	2	1p.100
Ethionamide	20	10p.100