



Diagnostic des infections à Mycobactéries

Epidémiologie

La tuberculose dans le monde

plus du tiers de la population mondiale soit 2 milliards de personnes sont porteurs du BK. La tuberculose est la première cause mondiale de mortalité infectieuse : 8 millions de personnes développent une tuberculose- maladie chaque année et 2 millions en meurent. L'épidémie de SIDA contribue au développement de la maladie. De plus, on assiste à l'émergence de bacilles multirésistants aux antibiotiques (Rifampicine et Isoniazide).

La tuberculose en France

son incidence continue de baisser dans les pays industrialisés. En France : elle est inférieure à 10 cas pour 100 000 habitants (5 pour la population née en France) et la multirésistance est d'environ 1 % .

Les infections à mycobactéries

elles regroupent la tuberculose due aux mycobactéries du groupe *tuberculosis* et les mycobactéries non tuberculeuses dites « atypiques ». Plus de 100 espèces sont décrites parmi ces dernières : ce sont des germes ubiquitaires présents dans l'eau ou le sol, opportunistes et non contagieux à l'origine d'infections pulmonaires, adénites, infections cutanées, formes généralisées.

Le traitement de ces infections est de type chirurgical ou médicamenteux : Clarythromycine + Ethambutol + Rifabutine.

Diagnostic biologique des mycobactéries

Examen direct

il se fait après décontamination, concentration et fluidification

éventuelle. La coloration de première intention utilisée est à l'auramine puis le Ziehl Neelsen en confirmation car plus spécifique. Cet examen est peu sensible (< 50%) et non spécifique mais il permet de répondre à la présence ou l'absence de BAAR et de prendre des mesures rapides d'isolement du patient et de traitement.

La culture

c'est la technique de référence car c'est l'examen le plus sensible, indispensable à l'identification et à la réalisation de l'ATB . Elle se fait sur milieux solides de Löwenstein-Jensen et Coletsos ou, mieux, sur milieu liquide de Middlebrook et milieu gélosé (le milieu liquide permet de raccourcir le délai de pousse de 10 jours environ par rapport au milieu solides). La complémentarité entre milieu solide et liquide est recommandée car certaines mycobactéries poussent mieux en milieu solide, d'autres au contraire en milieu liquide.

L'identification

- La méthode traditionnelle biochimique est longue, laborieuse et subjective.
- Les sondes Accuprobe® : complexe tuberculeux, complexe aviaire, *M. kansasii*, *M. gordonae* permettent une réponse rapide en 1 jour mais il n'existe que 4 sondes développées à ce jour.
- Inno-Lipa® d'Innogenetics et Genotype® Mycobacteria de Hain identifient une quinzaine d'espèces par PCR suivie d'une hybridation moléculaire.
- Genotype® MTBC de Hain identifie à l'intérieur du complexe *tuberculosis* (BK, *bovis*, *africanum*, *microti*, BCG).
- Le séquençage permet une identification exhaustive mais implique des banques de données.
- Le typage moléculaire (MIRU-VNTR, spoligotyping, RFLP) permet de comparer l'identité de plusieurs souches.

L'antibiogramme

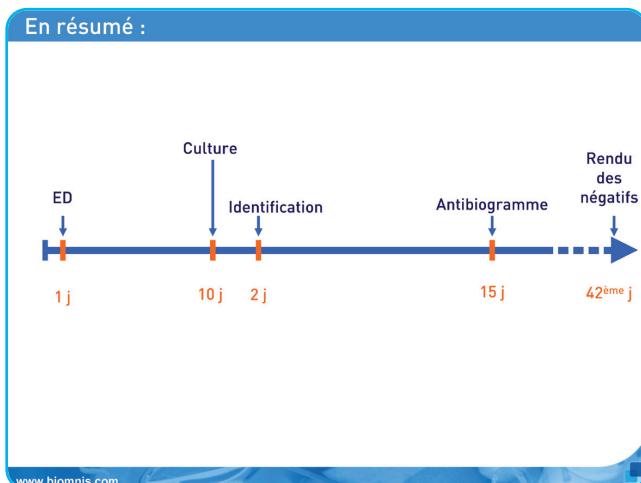
- Méthode des proportions en tube sur milieu de Lowenstein-Jensen : c'est la méthode de référence encore utilisée au Centre de Référence de la Pitié-Salpêtrière avec réponse en 28 jours.
- Technique Bactec® MGIT : réponse en 10 jours pour le BK.
- Technique BactAlert® de Biomérieux pour le BK dont la commercialisation est suspendue à ce jour.
- E Test® (bandelettes), Sensititre® (microplaques) pour les mycobactéries atypiques à croissance rapide .

Recherche des gènes de résistance à la rifampicine et à l'INH

réalisée dans les situations d'urgence avec suspicion de BK multirésistants. Elle se fait en 36 heures à partir des cultures positives ou de prélèvements à examen direct positif.

- Rifampicine : la mutation du gène rpoB est responsable de 96 % des résistances.
- INH (gène katG et INH A).

En résumé :



En résumé : si la culture est négative, les résultats sont rendus au bout de 6 semaines, on attendra 2 semaines supplémentaires par sécurité s'il existe une forte suspicion.

Recherche d'ADN ou d'ARN mycobactérien

Les deux complexes exploitables sont *tuberculosis* et *avium*. La PCR en temps réel et le NASBA permettent de rendre un résultat en moins de 2 jours. La sensibilité est faible : de 25 à 75 % quand l'examen direct est négatif. La spécificité est imparfaite. La NABM réserve l'examen au LCR et tissus ayant un examen direct négatif. En tout état de cause, ils doivent être pratiqués en complément de la culture.

Test sanguin de production d'interféron γ

L'intradermoréaction (IDR) est de mise en œuvre et d'interprétation délicate. De plus, elle est peu spécifique. C'est pourquoi, des tests sanguins ne croisant pas avec le BCG ont été développés. La Haute Autorité de Santé les a retenus dans les conditions suivantes :

- Enquête autour d'un cas, 3 mois minimum après le contact supposé.
- Embauche et surveillance des professionnels de santé.
- Aide au diagnostic des formes extra-pulmonaires de la tuberculose-maladie.
- Avant la mise en route d'un traitement par anti-TNFα.

Le test **QuantiFERON-TB IT** explore la capacité des lymphocytes du patient à secréter de l'interféron γ après stimulation par les protéines ESAT-6, CFP-10 et TB7.7 du BK (absentes dans le BCG).

Un contrôle négatif sans antigène et un contrôle positif avec mitogène valident le résultat.

Le prélèvement se pratique sur 3 tubes spécifiques, il faut les agiter vigoureusement avant de les incuber 24 H à 37 °C, puis les centrifuger sans les décanter avant l'envoi à +4 °C au laboratoire réalisateur. L'interféron γ est quantifié par technique ELISA.

