HAL
open science

Mycobacterium xenopi: revue de la littérature et étude de la sensibilité aux antibiotiques

Jean-Noël Dauendorffer

To cite this version:

Jean-Noël Dauendorffer. Mycobacterium xenopi: revue de la littérature et étude de la sensibilité aux antibiotiques. Sciences pharmaceutiques. 1999. hal-01733776

HAL Id: hal-01733776

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733776

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

Ph N 99/34
Double

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY I

1999

FACULTE DE PHARMACIE

Mycobacterium xenopi : revue de la littérature et étude de la sensibilité aux antibiotiques.

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le 21 mai 1999

pour obtenir

BIBLIOTHÈQUE
PHARMACIE
ODONTOLOGIE
NANCY

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Monsieur Jean-Noël DAUENDORFFER

Membres du Jury

Président : Mme J. SCHWARTZBROD, Professeur

Juges : Mlle M. DAILLOUX, Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier

Mme M. WEBER, Chef de Service - Laboratoire de Bactériologie

M J. LOUBINOUX, Assistant Hospitalo - Universitaire

DB 13703

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY I

1999

FACULTE DE PHARMACIE

Mycobacterium xenopi : revue de la littérature et étude de la sensibilité aux antibiotiques.

THESE

BIBLIOTHÈQUE PHARMACIE ODONTOLOGIE NANCY

Présentée et soutenue publiquement

Le 21 mai 1999

pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Monsieur Jean-Noël DAUENDORFFER

Membres du Jury

Président : Mme J. SCHWARTZBROD, Professeur

Juges : Mlle M. DAILLOUX, Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier

Mme M. WEBER, Chef de Service - Laboratoire de Bactériologie

M J. LOUBINOUX, Assistant Hospitalo - Universitaire

BU PHARMACIE
D 104 042420 2

FACULTE DE PHARMACIE

UNIVERSITE Henri Poincaré - NANCY I

Membres du personnel enseignant

Doyen : C. VIGNERON
Vice Doyen : G. CATAU

PROFESSEURS HONORAIRES

M. BERNANOSE André
Mle BESSON Suzanne
Mle GIRARD Thérèse
M. MEUNIER André
M. MIRJOLET Marcel
M. PIERFITTE Maurice

PROFESSEUR EMERITE

M. LOPPINET Vincent

PROFESSEURS

M.	ASTIER Alain	Pharmacie Clinique
M.	ATKINSON Jeffrey	Pharmacologie
M.	BAGREL Alain	Biochimie fondamentale et clinique, Biotechnologies
Mle	BATT Anne Marie	Toxicologie
M.	BLOCK Jean Claude	Santé et Environnement
M.	BONALY Roger	Biochimie microbienne
Mme	CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie Cardiovasculaire
Mme	FINANCE Chantal	Microbiologie moléculaire
Mme	FRIANT-MICHEL Pascale	Biomathématiques, Biophysique et Audioprothèse
Mle	GALTEAU Marie Madeleine	Biochimie
M.	HENRY Max	Biologie végétale
M.	HOFFMAN Maurice	Pharmacie clinique
M.	JACQUE Michel	Pharmacodynamie
M.	LABRUDE Pierre	Physiologie
M.	LALLOZ Lucien	Chimie organique
M.	LECTARD Pierre	Biologie végétale et Cryptogamie
M.	MAINCENT Philippe	Pharmacie galénique
M.	MARSURA Alain	Chimie thérapeutique
M.	MARTIN Jean Armand	Chimie minérale et Minéralogie
M.	MORTIER François	Pharmacognosie
M.	NICOLAS Alain	Chimie analytique et Bromatologie
M.	REGNOUF DE VAINS Jean Bernard	Chimie Thérapeutique
Mme	SCHWARTZBROD Janine	Bactériologie - Parasitologie
M.	SCHWARTZBROD Louis	Virologie - Immunologie
M.	SIEST Gérard	Chimie Biologique
M.	SIMON Jean Michel	Droit et Economie de la Santé
M.	VIGNERON Claude	Hématologie

Document établi le 10 décembre 1998

MAITRES DE CONFERENCES

Mme	ALBERT Monique	Bactériologie - Virologie
M.	BAUDOT Philippe	Toxicologie
Mme	BENOIT Emmanuelle	Chimie Analytique
M.	BONNEAUX François	Chimie Thérapeutique
M.	CATAU Gérald	Pharmacodynamie
M.	CHEVIN Jean Claude	Chimie minérale
M.	COLLIN Jean François	Pôle européen
Mme	COLLOMB Jocelyne	Parasitologie
M.	COULON Joël	Biochimie
M.	DECOLIN Dominique	Chimie analytique
M.	DUCOURNEAU Joël	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Mme	FAIVRE-FIORINA Béatrice	GBM - Hématologie
M.	FERRARI Luc	Biochimie
Mme	FUZELLLIER Marie Claude	Pharmacognosie
M.	GHERMANI Nour-Eddine	Biophysique - Biomathématiques
Mme	HASENFRATZ-SAUDER Marie Paule	Biologie Végétale
Mle	HINZELIN Françoise	Biologie végétale et Pharmacognosie
M.	HUMBERT Thierry	Interactions moléculaires
Mle	IMBS Marie Andrée	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
M.	JORAND Frédéric	Santé et Environnement
Mme	KEDZIEREWICZ Francine	Pharmacie Galénique
Mme	LARTAUD-IDJOUADIENE Isabelle	Pharmacologie
Mme	LEININGER-MULLER Brigitte	Biochimie
M.	LEROY Pierre	Chimie analytique
Mme	LETOT Michèle	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
Mme	LIVERTOUX Marie Hélène	Toxicologie
Mme	MARCHAND-ARVIER Monique	Immunologie - Hématologie
M.	MENU Patrick	Physiologie
M.	MIGNOT Bernard	Physique
M.	MONAL Jean Louis	Chimie Thérapeutique
M.	NOTTER Dominique	Biologie cellulaire
Mme	PAULUS Francine	Informatique
Mme	PERDICAKIS Christine	Chimie organique
Mme	PICHON Virginie	Biophysique et Mathématiques
Mme	POCHON Marie France	Chimie analytique
Mme	ROVEL Anne	Immunologie - Hématologie
M.	VISVIKIS Athanase	Toxicologie
Mme	WELLMAN-ROUSSEAU Maria Monika	Biochimie
Mme	ZINUTTI Colette	Pharmacie galénique

ASSISTANTS

Mme	BERTHE Marie-Catherine	Biochimie
M.	DANGIEN Bernard	Botanique
Mme	MOREAU Blandine	Pharmacognosie
Mme	PAVIS Annie	Parasitologie
M.	TROCKLE Gabriel	Pharmacodynamie

PROFESSEUR ASSOCIE

Mme	GRISON Geneviève	Pratiques officinales (50%)

PROFESSEUR AGREGE

M.	COCHAUD Christophe	Anglais

Document établi le 9 décembre 1998

SERMENT D'APOTHICAIRE

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les moeurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

A notre Président de thèse,

Madame le Professeur J. SCHWARTZBROD, Professeur des Universités (Faculté de Pharmacie de Nancy)

Au cours de nos études à la Faculté, vous nous avez fait découvrir et enseigné avec beaucoup de rigueur la Bactériologie.

Vous nous faites l'honneur de présider cette thèse.

Nous vous en remercions et souhaitons que vous trouviez ici le témoignage de notre profond respect.

A notre directeur de thèse,

Mademoiselle M. DAILLOUX, Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier (Laboratoire de Bactériologie - CHU de Nancy)

Vous nous avez fait découvrir les mycobactéries et formé à leur étude.

C'est avec beaucoup de compétence, patience et gentillesse que vous avez toujours su répondre à nos nombreuses questions et sollicitations.

Vous êtes à l'origine de ce travail que vous avez accepté de diriger. Qu'il soit pour vous le témoignage de notre profonde reconnaissance.

A notre juge,

Madame M. WEBER, Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier, Chef de service (Laboratoire de Bactériologie - CHU de Nancy)

Au cours de notre Internat, vous nous avez accueilli au sein de votre Laboratoire et nous avez enseigné les techniques et le raisonnement nécessaires à la Bactériologie clinique.

Puissiez-vous trouver dans ce travail le témoignage de notre respect pour votre compétence et nos remerciements pour votre disponibilité.

A notre juge,

Monsieur J. LOUBINOUX, Assistant Hospitalo-Universitaire (Laboratoire de Virologie - CHU de Nancy)

Vous nous faites profiter de votre expérience,

Que ce travail soit pour vous le témoignage de notre amitié.

BIBLIOTHÈQUE
PHARMACIE
ODONTOLOGIE
NANCY

SOMMAIRE

INTRODUCTION **1**

PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE **3**

1. HISTORIQUE **4**

2. TAXONOMIE **5**

2.1. Le genre *Mycobacterium* 5

2.1.1. Acido-alcoolo-résistance 5

2.1.2. Acides mycoliques 6

2.1.3. Contenu de l'ADN en guanine et cytosine (GC%) 6

2.2. Classification des mycobactéries 7

3. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES **9**

3.1. Caractères morphologiques 9

3.2. Caractères culturaux 9

3.3. Caractères biochimiques 10

3.4. Caractères antigéniques 11

3.5. Caractéristiques des constituants lipidiques 11

4. EPIDEMIOLOGIE **13**

4.1. Réservoir 13

4.1.1. Les circuits de distribution d'eau 13

4.1.2. Réservoir environnemental 13

4.1.3. Réservoir animal 14

4.2. Répartition géographique 15

4.3. Transmission 16

5. PHYSIOPATHOLOGIE **18**

6. POUVOIR PATHOGENE **20**
6.1. Pouvoir pathogène chez l'animal 20
6.1.1. Pouvoir pathogène expérimental 20
6.1.2. Pouvoir pathogène naturel 21
6.2. Pouvoir pathogène chez l'homme 23
6.2.1. Les infections pulmonaires 23
6.2.2. Les infections extra-pulmonaires 25
6.2.2.1. Les infections ostéo-articulaires 25
6.2.2.2. Autres localisations extra-pulmonaires 27
6.2.3. Les infections disséminées 27

7. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE **28**
7.1. Les prélèvements 28
7.2. L'examen microscopique 30
7.3. La culture 31
7.3.1. Procédé traditionnel 31
7.3.2. Techniques récemment développées 32
7.4. L'identification 33
7.4.1. Les méthodes conventionnelles 34
7.4.2. Les méthodes d'identification spécialisées 35
7.4.2.1. Les techniques chromatographiques 35
7.4.2.2. Les techniques de biologie moléculaire 37

8. TRAITEMENT **39**
8.1. Méthodes d'étude de la sensibilité aux antibiotiques 39
8.2. Choix des antibiotiques 40

SECONDE PARTIE : ETUDE DE LA SENSIBILITE DE *Mycobacterium xenopi* AUX ANTIBIOTIQUES **43**

1. INTRODUCTION **44**

2. MATERIEL ET METHODE **45**

2.1. Souches bactériennes 45

2.2. Méthode de détermination des CMI 47

3. RESULTATS **48**

4. DISCUSSION **50**

CONCLUSION **54**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES **57**

INTRODUCTION

Depuis sa découverte en 1965, *Mycobacterium xenopi* (*M. xenopi*) a été peu étudié par les bactériologistes, du fait de son faible rôle en pathologie infectieuse. Contrairement à *M. avium* qui a suscité l'intérêt auprès des microbiologistes et des infectiologues de par son rôle d'agent opportuniste chez les patients atteints par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH), c'est au domaine de l'hygiène hospitalière et plus particulièrement au suivi des infections nosocomiales que *M. xenopi* doit l'attention qu'on lui porte actuellement.

Depuis quelques années, *M. xenopi* a été en effet incriminé dans un certain nombre d'infections nosocomiales ayant comme principale origine la contamination des réseaux hospitaliers de distribution d'eau.

Aussi était-il intéressant de réaliser une revue de la littérature afin de rassembler les connaissances concernant les caractéristiques bactériologiques et le rôle en pathologie infectieuse de *M. xenopi*.

Les connaissances sur la sensibilité de *M. xenopi* aux antibiotiques étant peu développées, nous avons étudié, pour 14 souches isolées au laboratoire de bactériologie du CHU de Nancy, la sensibilité *in vitro* à l'amikacine, la clarithromycine, l'éthambutol, l'ofloxacine et la rifampicine.

PREMIERE PARTIE :

REVUE DE LA LITTERATURE

1. HISTORIQUE

"Nous nous sommes trompés pendant plus de cinquante ans en ne voulant pas croire au pouvoir pathogène pour l'Homme de certains bacilles para-tuberculeux. Ne nous trompons, ni maintenant ni dans l'avenir, en sens inverse. Pour ce faire, ne ménageons ni notre temps ni notre peine, et soyons aussi sévères que possible avec nous-mêmes." Ainsi s'exprimait Hauduroy en 1960, un an après la découverte de *M. xenopi* (26).

C'est en effet en 1959 que Schwabacher isola pour la première fois *M. xenopi* de la lésion cutanée d'un crapaud d'Afrique du Sud appelé *Xenopus laevis* (52).

En 1962, *M. xenopi* fut retrouvé sur le littoral britannique puis en France, ses zones de prédilection étant alors le Sud de l'Angleterre et le bassin de la Seine en France (22).

M. xenopi ne fut reconnu comme pathogène pour l'homme qu'en 1965 (69). Les années qui suivirent furent marquées par la description de multiples cas d'infection humaine, mais ce n'est qu'à partir de 1970 que la bactérie fut considérée comme un agent d'infection nosocomiale (17).

De 1988 à 1993, *M. xenopi* fut impliqué en France dans une épidémie de spondylodiscites nosocomiales résultant d'un défaut de stérilisation du matériel chirurgical et suscita un regain d'intérêt auprès des bactériologistes et des infectiologues (76).

2. TAXONOMIE

M. xenopi appartient à la famille des *Mycobacteriaceae* qui comporte un genre unique, le genre *Mycobacterium.*

2.1. Le genre *Mycobacterium* (38, 47, 66)

Sous l'égide du Comité International de Bactériologie Systématique, les critères constituant les conditions minimales à remplir pour inclure un germe dans le genre *Mycobacterium* ont été décrits, à savoir l'acido-alcoolo-résistance des bacilles, la composition en acides mycoliques et le contenu en guanine-cytosine (GC%) de l'ADN.

2.1.1. Acido-alcoolo-résistance

La présence d'acides mycoliques au sein de leur paroi permet aux mycobactéries de retenir les colorants même après décoloration forte à l'acide ou à l'alcool. Cette acido-alcoolo-résistance est mise en évidence par les techniques de coloration dérivées de la méthode originale de Ziehl-Neelsen. D'autres genres bactériens présentent cependant une acido-alcoolo-résistance relative, comme les genres *Nocardia*, *Gordona*, *Rhodococcus*, *Tsukamurella*, et dans une moindre mesure *Corynebacterium* (64).

2.1.2. Les acides mycoliques

Il s'agit d'acides gras à longue chaîne carbonée, alpha-ramifiés et béta-hydroxylés, constituant le support moléculaire de l'acido-alcoolo-résistance en formant une barrière physique prévenant l'action décolorante des acides et des alcools. Ces acides mycoliques représentent un critère taxonomique de choix. En effet, leur structure varie selon les genres bactériens mais la composition en acides mycoliques d'une espèce mycobactérienne est stable et commune à toutes les souches de cette espèce. Les mycobactéries possèdent des mycolates à très longue chaîne (60 à 90 atomes de carbone) libérant des esters de pyrolyse de 22 à 26 atomes de carbone et sont les seuls micro-organismes à synthétiser des mycolates porteurs de fonctions oxygénées supplémentaires telles que méthoxyl, cétone, époxide ou carboxylique (62). *M. xenopi* produit des acides mycoliques de type alpha-mycolates et dicarboxymycolates, dont les esters de pyrolyse sont constitués de 26 atomes de carbone (64).

2.1.3. Contenu de l'ADN en guanine et cytosine (GC%)

Les valeurs en GC% des mycobactéries sont comprises entre 61 et 71%, à une exception près, *Mycobacterium leprae*, dont le GC% a été évalué à 54-57%. Ces valeurs en GC% sont similaires à celles observées pour les autres bactéries productrices d'acides mycoliques, à savoir *Nocardia* (60-69%), *Rhodococcus* (59-69%) et *Corynebacterium* (51-59%) (62, 66).

2.2. Classification des mycobactéries

Le genre *Mycobacterium* est subdivisé en 71 espèces réparties selon l'usage en trois groupes en fonction de leur pouvoir pathogène (47) :

- Les mycobactéries tuberculeuses : *M. tuberculosis*, *M. bovis*, et *M. africanum*, constamment pathogènes pour l'homme ou les animaux, et le bacille de Calmette et Guérin (BCG), souche non pathogène de *M. bovis.*
- Les mycobactéries non tuberculeuses ou mycobactéries atypiques, parmi lesquelles on trouve *M. xenopi.* Ces mycobactéries atypiques sont commensales ou saprophytes, certaines pouvant se comporter comme pathogènes opportunistes et conduire à des infections dénommées mycobactérioses.
- *M. leprae* et *M. lepraemurium*, agents respectifs de la lèpre de l'homme et du rat .

Les mycobactéries atypiques se distinguent des mycobactéries de la tuberculose par leurs caractères culturaux et biochimiques, ainsi que par leur absence de pouvoir pathogène chez le cobaye lorsqu'elles sont injectées par voie sous-cutanée (63). En 1959, Runyon a proposé une classification de ces mycobactéries atypiques en quatre groupes, basée sur la vitesse de croissance et le type de pigmentation des colonies (51) (tableau I) :

- Groupe I : mycobactéries photochromogènes : colonies à croissance lente, non pigmentées à l'obscurité, se pigmentant en jaune à la lumière.
- Groupe II : mycobactéries scotochromogènes : colonies à croissance lente, pigmentées en jaune-orangé à l'obscurité, plus intensément à la lumière.
- Groupe III : mycobactéries non chromogènes : colonies à croissance lente, non pigmentées.

- Groupe IV : mycobactéries à croissance rapide : colonies apparaissant en moins d'une semaine et dont la pigmentation varie selon les espèces.

TABLEAU I

Classification proposée par RUNYON des principales mycobactéries atypiques (51, 63)

Espèces photochromogènes à croissance lente (groupe I)	*M. kansasii* *M. marinum*
Espèces scotochromogènes à croissance lente (groupe II)	*M. szulgai* *M. gordonae* ***M. xenopi*** *M. flavescens*
Espèces non chromogènes à croissance lente (groupe III)	*M. avium* *M. intracellulare* *M. celatum* *M. scrofulaceum* *M. malmoense* *M. simiae* *M. asiaticum* *M. terrae* *M. gastri* *M. triviale* *M. nonchromogenicum*
Espèces à croissance rapide (groupe IV)	*M. fortuitum* *M. peregrinum* *M. chelonae* *M. abscessus* *M. fallax* *M. vaccae* *M. senegalense* *M. thermoresistibile* *M. phlei* *M. smegmatis*

3. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

3.1. Caractères morphologiques (11, 66)

Du fait de son acido-alcoolo-résistance, *M. xenopi* apparaît à l'examen microscopique après coloration de Ziehl-Neelsen sous la forme de bacilles colorés de façon homogène en rouge sur un fond bleu. Ces bacilles se caractérisent par leur aspect long (jusqu'à 15µm) et fin. Ils sont chevelus, effilés aux extrémités et s'associent pour se disposer en paquets d'épingles.

3.2. Caractères culturaux (22, 34, 63)

M. xenopi est thermophile : il se multiplie à 37°C mais sa température optimale de croissance est de 42°C. Mycobactérie à croissance lente, *M. xenopi* forme des colonies apparaissant sur milieu de Loewenstein-Jensen en 3 à 4 semaines à 42°C et en 4 à 6 semaines à 37°C. La croissance est encore possible à 52°C mais elle ne l'est pas à 22°C. Elle est favorisée par la présence dans le milieu de culture de pyruvate de sodium (0,25%) et par une incubation dans une atmosphère présentant une tension basse en oxygène, en raison de la microaérophilie du germe.

Les colonies sont petites, de 1 à 2 mm de diamètre, lisses, en forme de tête d'épingle et adhèrent au milieu de culture. Elles se pigmentent en jaune pâle à l'obscurité et à la lumière. *M. xenopi* est la seule espèce mycobactérienne à pouvoir produire, sur milieu de Middlebrook 7H10, des colonies appelées "colonies X", présentant un centre compact entouré d'expansions filamenteuses ou hyphes branchées.

3.3. Caractères biochimiques (22, 63, 66)

L'identification de *M. xenopi* est réalisée à l'aide d'épreuves de croissance en présence d'inhibiteurs et de tests biochimiques. Ceux-ci font apparaître de nombreux résultats négatifs excepté la présence d'une catalase thermostable et d'une arylsulfatase. L'absence de production de niacine, l'absence de nitrate réductase, la présence d'une catalase thermostable et la croissance en présence de l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique sont les caractères communs aux mycobactéries atypiques. On note par ailleurs l'absence d'hydrolyse du Tween 80.

Les activités enzymatiques nicotinamidase, pyrazinamidase, alpha-estérase, catalase thermostable à 68°C, arylsulfatase et tellurite réductase sont constantes alors que l'activité nitrite réductase est variable selon les souches. Les activités uréase, propionamidase, béta-galactosidase, phosphatase acide, peroxydase et nitrate réductase sont absentes.

La croissance de *M. xenopi* est possible de façon constante en présence d'inhibiteurs tels que l'hydroxylamine (125 µg/mL), la thiacetazone (10 µg/mL) et l'hydrazide de l'acide thiophène-2-carboxylique (1 µg/mL). Elle est possible de façon variable selon les souches en présence d'acide para-nitrobenzoique (500 µg/mL), d'acide para-aminosalicylique (1 µg/mL) et d'éthambutol (5 µg/mL). Par contre, *M. xenopi* ne peut se multiplier en présence d'inhibiteurs comme l'acide oléique (250 µg/mL), l'acide picrique (2mg/mL), l'hydroxylamine (500 µg/mL), le chlorure de sodium (5%) et l'isoniazide (1µg/mL).

3.4. Caractères antigéniques (2, 66)

La technique d'immunodiffusion montre la présence de 4 antigènes spécifiques d'espèce.

Une réaction d'hypersensibilité retardée peut être produite in vivo par injection intra-dermique d'une sensitine. Cette sensitine, appelée PPD (Purified Protein Derivative), est fournie par le *Statens Serum Institut* de Copenhague et correspond à un antigène soluble dérivé des fractions cytoplasmiques obtenues après rupture de la paroi de *M. xenopi*.

3.5. Caractéristiques des constituants lipidiques

Les acides mycoliques étant de taille trop importante pour être volatilisés, ils ne peuvent être analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG). Par contre, l'analyse de la composition en acides mycoliques de *M. xenopi* par chromatographie en couche mince (CCM) ou par chromatographie liquide haute performance (CLHP) montre la présence d'acides mycoliques de types I (alpha-mycolate) et VI (dicarboxymycolate) (8, 61).

Les esters de pyrolyse des acides mycoliques correspondent à leur partie alpha-ramifiée et peuvent être identifiés par CPG. *M. xenopi* se caractérise par la formation d'un ester de pyrolyse à 26 atomes de carbone ou acide hexacosanoique (61).

Les acides gras de *M. xenopi* peuvent être libérés par saponification puis dérivatisés par méthylation afin de les rendre volatiles et analysables par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Cette analyse révèle que l'acide gras dominant est l'acide hexadécanoique, d'autres acides gras étant retrouvés mais en quantité moindre comme l'acide

tuberculostéarique ou acide 10 méthyl-octadécanoique, l'acide octadécanoique, l'acide tétradécanoique et l'acide heptadécanoique (32).

L'analyse par CPG d'alcools gras présents chez *M. xenopi* révèle l'existence de deux alcools majeurs : le 2-eicosanol et le 2-docosanol. *M. xenopi* étant la seule mycobactérie à produire le 2-docosanol, certains auteurs ont proposé cet alcool comme marqueur d'identification de l'espèce *M. xenopi* (31).

Enfin, des extraits lipidiques bruts de *M. xenopi* analysés par CCM permettent d'identifier des lipooligosaccharides dérivés du tréhalose. Ce profil glycolipidique spécifique peut constituer un critère d'identification de la bactérie (61).

4. EPIDEMIOLOGIE

4.1. Réservoir

4.1.1. Les circuits de distribution d'eau (70, 72)

L'eau du robinet semble être la source essentielle de contamination humaine par *M. xenopi*. Celui-ci est en effet isolé de robinets d'eau chaude ou froide et de réservoirs d'eau en milieu hospitalier, l'eau chaude étant plus fréquemment incriminée, probablement en raison de la thermophilie de la bactérie. Le pourcentage de prélèvements positifs au niveau des robinets, en milieu hospitalier, varie selon les études de 20 à 60% (33). La stagnation de l'eau dans les canalisations ou les réservoirs permet l'adhésion des germes aux parois et la formation d'un biofilm favorisant le développement de *M. xenopi* et rendant son élimination plus difficile. Aucune donnée chiffrée ne permet de préciser, à ce jour, le niveau de contamination des eaux de distribution publique ou les concentrations bactériennes nécessaires pour induire une infection chez l'homme.

4.1.2. Réservoir environnemental (11, 68)

M. xenopi, comme la plupart des mycobactéries atypiques, est un germe résistant, ce qui lui permet de survivre, voire de se multiplier dans un milieu défavorable. Cependant, contrairement à de nombreuses autres mycobactéries, il semble qu'il soit peu répandu dans l'environnement hydro-tellurique.

La difficulté d'isoler les mycobactéries à croissance lente à partir de l'environnement peut expliquer que *M. xenopi* ne soit pas retrouvé dans les prélèvements de terre et d'eau lorsqu'il s'y trouve en faible quantité. Par ailleurs, les germes de l'environnement sont des germes stressés, souvent incapables de se développer dans les conditions de culture qui leurs sont offertes en laboratoire, ce qui conduit à des résultats faussement négatifs. Enfin, les méthodes d'analyse classiques utilisées, tant pour confirmer la potabilité d'une eau en fonction des critères microbiologiques que pour contrôler sa stérilité, ne permettent pas l'isolement des mycobactéries. En raison de la possible sous-estimation de la fréquence d'isolement de *M. xenopi* dans l'environnement, des méthodes de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ont été développées. Encore en cours d'évaluation, elles semblent plus adaptées à la détection des germes dans l'environnement et plus sensibles que les méthodes bactériologiques conventionnelles. Elles présentent cependant l'inconvénient de détecter également les germes non viables.

4.1.3. Réservoir animal

Les oiseaux de mer ont été les premiers animaux à être considérés comme réservoir naturel potentiel de *M. xenopi*. Cette hypothèse était basée sur le fait que, en Grande-Bretagne, le germe était isolé plus fréquemment dans les zones situées sur la côte sud-est de l'île et à proximité des estuaires que dans les régions localisées à l'intérieur des terres. L'étude des oiseaux de mer n'a cependant pas permis de confirmer cette hypothèse bien que *M. xenopi* ait été occasionnellement retrouvé dans les excreta d'oiseaux (34).

En France, Desbordes-Lize *et al.* ont réalisé une enquête épidémiologique à l'occasion d'une endémie hospitalière au cours de laquelle 558 souches de *M. xenopi* ont été isolées à l'hôpital

du Havre, et ce sur une période de10 ans. La mouette fut reconnue comme principal réservoir de germes, mais aucune autre étude n'a pu confirmer ce résultat (17).

Au total, les isolements de *M. xenopi* chez l'animal restent rares et ne permettent pas de conclure à l'existence d'un réservoir animal pour cette bactérie.

4.2. Répartition géographique

Les données concernant la répartition géographique de *M. xenopi* sont limitées et sont déduites des fréquences d'isolement du germe chez l'homme. Ainsi, *M. xenopi* a été retrouvé partout dans le monde, mais de façon variable : il a été rarement isolé aux Etats-Unis, au Japon et en Australie alors qu'il a été plus fréquemment retrouvé en Angleterre et au Pays de Galles, en France, en Italie (région de Florence), dans les pays scandinaves et au Canada (province de l'Ontario, région des Grands Lacs) (14, 34, 60).

Dans le Sud de l'Angleterre, *M. xenopi* est la deuxième espèce mycobactérienne la plus fréquemment isolée de prélèvements d'origine humaine (70).

Aux Etats-Unis, *M. xenopi* ne représentait que 0,2% des isolats rapportés par les *Centers for Disease Control* en 1980, la moitié de ces isolats provenant du Connecticut, du Wisconsin et de la Californie (72). Une étude épidémiologique réalisée par O'Brien *et al.* de 1981 à 1983 sur l'ensemble du territoire des Etats-Unis montre que *M. xenopi* a été isolé 73 fois sur un total de 2758 mycobactéries atypiques isolées (soit 2,6%), ce qui le place en sixième position après *M. avium*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum* et *M. chelonae* (40).

Des disparités existent en France où *M. xenopi* est plus souvent retrouvé dans les régions du Nord et de l'Ouest (Bassin de la Seine) (22). L'analyse des mycobactéries atypiques isolées en 1979 et en 1989 dans le laboratoire de bactériologie du Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière montre une augmentation de la fréquence d'isolement de *M. xenopi*, celui-ci représentant 0,6% des cultures positives en 1979 et 11,1% en 1989 (23).

4.3. Transmission

L'infection à *M. xenopi* résulte d'une acquisition exogène du germe et non de la réactivation d'une infection latente. La transmission ne semble pas être interhumaine, elle survient à partir de l'environnement, principalement à partir de l'eau. L'eau semble en effet être un vecteur essentiel des infections d'origine iatrogène, *M. xenopi* étant peu sensible aux produits utilisés pour la désinfection de l'eau et survivant aisément dans les biofilms constitués à la surface des matériaux (11, 25).

Différentes voies de contamination ont été décrites, ayant en commun une origine hydrique.

L'inhalation d'aérosols formés au cours des douches à partir d'eau de distribution contaminée semble être la principale voie de transmission et rend compte du fait que la plupart des infections humaines à *M. xenopi* sont des infections pulmonaires (70).

L'ingestion d'eau de boisson contaminée a été incriminée mais son importance épidémiologique est moindre (69).

L'inoculation directe de *M. xenopi*, consécutive à un traumatisme ou à l'emploi de matériel contaminé lors d'actes médicaux invasifs ou d'interventions chirurgicales, semble jouer un rôle croissant dans la transmission du germe (11). En effet, la résistance de *M. xenopi* à de

nombreux désinfectants lui permet de survivre aux traitements de désinfection chimique et de contaminer le matériel hospitalier non stérilisable par la chaleur, comme par exemple les bronchoscopes. Ainsi, Bennet *et al.* ont décrit une épidémie de pseudo-infections à *M. xenopi* dans un hôpital du Michigan aux Etats-Unis de 1988 à 1991, détectée par la fréquence anormalement élevée d'isolement de *M. xenopi* par rapport aux autres mycobactéries atypiques, soit 35% (5). L'enquête épidémiologique a démontré que les bronchoscopes utilisés pour obtenir des prélèvements destinés à l'analyse bactériologique étaient contaminés par *M. xenopi.* Celui-ci a été en outre retrouvé dans le circuit hospitalier de distribution d'eau à partir duquel il pouvait contaminer l'eau utilisée soit en tant que diluant des désinfectants soit en tant que liquide de rinçage du matériel désinfecté.

En France, une épidémie nosocomiale de spondylodiscites à *M. xenopi*, survenue entre 1988 et 1993, a touché plus de cinquante patients traités par nucléotomie percutanée dans un même établissement parisien (76). La contamination avait pour origine les instruments chirurgicaux, contaminés lors du protocole de décontamination, plus précisément au cours de la phase de rinçage à l'eau qui suivait la phase de désinfection par immersion dans une solution de glutaraldéhyde. Cette eau de rinçage présumée stérile était en fait contaminée par *M. xenopi* qui a pu être isolé du circuit de distribution d'eau de l'hôpital.

5. PHYSIOPATHOLOGIE

Les mycobactéries atypiques sont des saprophytes peu ou pas pathogènes pour l'homme sain et se comportent comme des bactéries opportunistes.

Comme les autres mycobactéries atypiques, *M. xenopi* ne devient pathogène que dans trois circonstances (14) :

- introduction accidentelle du germe dans l'organisme : inoculation directe dans les tissus suite à un traumatisme ou à un geste chirurgical.
- existence de lésions pulmonaires pré-existantes : séquelles de tuberculose, dilatation des bronches.
- immunodépression générale : SIDA, traitement immunosuppresseur.

L'incidence des infections à mycobactéries atypiques est en constante progression en raison du nombre croissant de sujets susceptibles de contracter des infections opportunistes : patients atteints de SIDA ou d'un cancer, transplantés et greffés de moelle osseuse. De plus, les techniques invasives qui se développent en médecine et en chirurgie (pose de matériel prothétique, endoscopie) favorisent les contaminations par inoculation directe (25).

Les infections à mycobactéries sont des maladies infectieuses chroniques caractérisées par l'établissement de granulomes tissulaires produits par l'accumulation de cellules, majoritairement mononucléées. La chronicité de ces maladies est due à la persistance des agents infectieux. *M. xenopi*, à la différence de *M. tuberculosis* et de certaine souches de *M. avium*, est incapable d'échapper aux mécanismes non spécifiques des défenses immunitaires : après phagocytose par les cellules du système phagocytaire mononucléé, il ne peut survivre et

se multiplier à l'intérieur de la vacuole de phagocytose qui, après fusion avec les lysosomes, sera le siège d'une explosion oxydative. Par contre, chez un individu présentant un déficit local ou systémique des défenses immunitaires, *M. xenopi* pourra entraîner une pathologie variable en fonction de la porte d'entrée et du type de déficit immunitaire (partiel ou total). Ainsi un déficit immunitaire impliquant les lymphocytes CD4+ à mémoire sera associé à une augmentation de la fréquence de maladie granulomateuse alors qu'en cas de déficit profond touchant l'ensemble des populations lymphocytaires CD4+, on observera des formes disséminées sans réaction inflammatoire (30).

Concernant les infections ostéo-articulaires, si certaines infections sont à mettre en relation avec une inoculation directe de *M. xenopi*, d'autres sont plus difficiles à expliquer. Dans ce cas, on pourrait évoquer l'origine respiratoire de l'infection, consistant en l'inhalation d'aérosols contaminés, la colonisation du tractus respiratoire puis la dissémination par voie hématogène de la bactérie avec localisation septique ostéo-articulaire (74).

6. POUVOIR PATHOGENE

6.1. Pouvoir pathogène chez l'animal

6.1.1 Pouvoir pathogène expérimental (66)

Le pouvoir pathogène expérimental de *M. xenopi* varie en fonction de l'animal, de la dose inoculée et de la voie d'inoculation.

Chez la souris, la réponse à l'inoculation intra-péritonéale de 0,2 à 10 mg d'une culture de *M. xenopi* est variable : certains d'animaux meurent et on peut observer chez eux un nombre limité de lésions macroscopiques apparaissant au niveau du foie, de la rate, des reins ou des poumons.

Après administration par voie intra-musculaire de 4 mg d'une culture de *M. xenopi*, le cochon d'Inde développe un abcès caséeux localisé au site d'injection, sans dissémination systémique. L'injection intra-dermique de 0,1 mg de bacilles entraîne une ulcération au site d'injection. Enfin, une quantité de 1 mg de bacilles ne provoque aucune lésion macroscopique lorsqu'elle est administrée par voie intra-veineuse alors qu'on observe des nodules macroscopiques au niveau de l'épiploon de certains animaux lorsque cette quantité est inoculée par voie intra-péritonéale.

L'administration à la poule de 4 mg de bacilles par voie intra-musculaire ou de 1 mg par voie intra-veineuse n'entraîne aucune lésion. Par contre, l'administration intra-veineuse de 5 mg est létale et est associée à des lésions hépatiques et spléniques.

Les lapins inoculés par voie intra-musculaire avec 4 mg de culture de *M. xenopi* développent un abcès caséeux au site d'injection tandis que l'injection intra-veineuse de 5 mg provoque peu de lésions macroscopiques ou des lésions localisées au niveau des articulations et des tendons.

6.1.2. Pouvoir pathogène naturel (3)

Les manifestations cliniques des mycobactérioses chez les animaux sont très polymorphes et dépendent aussi bien de l'espèce mycobactérienne que de l'espèce animale. Parmi les mycobactéries atypiques, *M. xenopi* n'est pas un agent étiologique fréquent de mycobactériose animale, contrairement à d'autres espèces comme *M. avium* chez les oiseaux et les porcins et *M. paratuberculosis* chez les bovins.

Chez les bovins, l'infection mycobactérienne la plus répandue est la paratuberculose due *à M. paratuberculosis* qui se traduit anatomiquement par une atteinte inflammatoire de la muqueuse intestinale et des ganglions mésentériques. *M. xenopi* a été décrit comme responsable d'adénites mycobactériennes touchant principalement les ganglions rétropharyngés qui apparaissent alors hypertrophiés, souvent calcifiés, ces lésions étant difficiles à distinguer macroscopiquement d'authentiques lésions tuberculeuses. Cette adénite est associée à une réaction tuberculinique positive alors que l'infection tuberculeuse à *M. bovis* est très improbable, traduisant une sensibilisation paraspécifique. D'autres facteurs peuvent potentialiser l'expression du pouvoir pathogène de la mycobactérie, comme par exemple le parasitisme intestinal par les douves. Celles-ci facilitent la translocation du germe à partir du tractus digestif vers les cellules immunocompétentes du foie. En dehors de ces

infections ganglionnaires, *M. xenopi* ne semble pas être impliqué dans d'autres atteintes localisées ou généralisées chez les bovins

Chez les porcins, les infections à mycobactéries atypiques sont asymptomatiques et ne sont détectées qu'à l'abattoir, par la constatation de lésions sur les ganglions qui sont généralement peu caséifiés et très rarement calcifiés. *M. avium* est l'agent étiologique le plus fréquemment retrouvé mais l'isolement de *M. xenopi* a également été décrit. Cliniquement, l'infection se caractérise par une adénite cervicale ou mésentérique non extensive.

La description de la pathogénicité de *M. xenopi* pour les animaux à sang froid est remarquable à double titre. Historiquement, la première description de *M. xenopi* par Schwabacher résulte de son isolement au niveau d'un abcès cutané dorsal découvert chez un crapaud, *Xenopus laevis* (52). Par ailleurs, cette description constitue le premier cas d'infection mycobactérienne diagnostiquée chez un animal à sang froid (71). Les mycobactéries atypiques peuvent toucher d'autres animaux à sang froid que les batraciens, comme les poissons, chez qui les mycobactérioses constituent une cause importante de mortalité. Leur fréquence augmente parallèlement au développement de l'aquariophilie. Les espèces principalement responsables sont *M. marinum* pour les poissons tropicaux et *M. fortuitum* pour les poissons d'eau douce. *M. xenopi* a également été décrit dans ce type d'infections. Cliniquement, on constate des signes généraux tels que maigreur, perte de vivacité, ainsi que des signes locaux consistant en une décoloration du tégument ou une mélanose, un ballonnement de l'abdomen et surtout une ulcération cutanée. L'autopsie montre des lésions nodulaires sur la plupart des organes. Ces maladies sévissent surtout dans des aquariums mal entretenus : température trop élevée, pollution organique liée à une filtration inadéquate de l'eau ou à un excès de nourriture.

6.2. Pouvoir pathogène chez l'homme

Bien que découvert en 1959, *M. xenopi* ne fut considéré comme pathogène pour l'homme qu'en 1965 (69). Les cas d'infection décrits l'ont été essentiellement par des équipes européennes et canadiennes alors que les cas rapportés aux Etats-Unis sont nettement moins nombreux, cette différence étant liée à la répartition géographique de la bactérie.

6.2.1. Les infections pulmonaires

M. xenopi est principalement responsable d'atteintes pulmonaires, parfois associées à des formes généralisées chez les patients immunodéprimés (42). L'expression clinique de la mycobactériose pulmonaire est variable et non spécifique. L'aspect le plus courant est celui d'une infection chronique ayant les caractéristiques cliniques et radiologiques de la tuberculose à *M. tuberculosis*. Aucun élément ne permet de distinguer réellement les deux infections dont le diagnostic repose sur les mêmes critères : altération de l'état général, symptômes respiratoires et aspect évocateur de la radiographie pulmonaire. De même, il est impossible de déterminer cliniquement l'espèce de mycobactérie atypique responsable de l'atteinte pulmonaire. Seul le résultat de l'analyse bactériologique permet de poser le diagnostic exact.

La quasi-totalité des patients présentent soit des antécédents d'atteinte pulmonaire, soit une tare extra-pulmonaire telle qu'un diabète, un alcoolisme chronique, une atteinte néoplasique extra-pulmonaire ou une immunodépression générale (infection par le VIH). Ainsi, schématiquement, l'infection touche deux populations : d'une part, des individus jeunes infectés par le VIH et d'autre part, des sujets plutôt âgés présentant des antécédents de

pathologie pulmonaire. Parmi les atteintes pulmonaires pré-existantes les plus fréquemment retrouvées, on peut citer les bronchopneumopathies chroniques obstructives, les antécédents de tuberculose à *M. tuberculosis*, le carcinome, l'emphysème, les séquelles de pneumoconiose et plus rarement la sarcoïdose, la fibrose pulmonaire ou la mucoviscidose (16, 28, 72).

Cliniquement, les symptômes les plus fréquents sont la toux et la dyspnée. Des signes généraux comme une hyperthermie ou une altération de l'état général avec perte de poids peuvent être présents, de même qu'une hémoptysie. La traduction clinique de la mycobactériose est très variable selon que l'infection se développe chez des patients infectés ou non par le VIH.. Chez le sujet séronégatif pour le VIH, le tableau clinique se caractérise par la prédominance de la symptomatologie respiratoire et une évolution chronique alors que chez le sidéen, l'évolution est aiguë avec des signes respiratoires mineurs ou absents (53). On peut néanmoins noter la description d'un cas d'insuffisance respiratoire aiguë post-opératoire d'évolution mortelle associée à *M. xenopi* chez un sujet indemne d'infection par le VIH (50).

La radiographie montre un infiltrat pulmonaire, des anomalies cavitaires d'évolution lente portant sur plusieurs années chez les malades séronégatifs pour le VIH tandis qu'elles sont diffuses, non cavitaires et rapidement changeantes chez le sidéen. D'autres anomalies sont visibles, comme des nodules de 1 à 3 cm de diamètre ou une fibrose. L'image pulmonaire peut même apparaître normale alors que *M. xenopi* est détecté dans le cadre d'une recherche systématique (42). L'examen histologique des lésions montre une réaction granulomateuse non spécifique impliquant des macrophages et des cellules géantes de Langhans.

Le pronostic des mycobactérioses pulmonaires à *M. xenopi* est sévère puisque même chez les patients immunocompétents, certaines études concluent à un taux de mortalité à 18 mois de

33%. Il semble cependant que la pathologie pré-existante sur laquelle évolue la mycobactériose pulmonaire soit plus importante pour le pronostic que l'infection mycobactérienne elle-même.

6.2.2. Les infections extra-pulmonaires

M. xenopi est plus rarement isolé à partir de prélèvements d'origine extra-pulmonaire que respiratoire, notamment parce qu'un grand nombre de souches isolées de prélèvements respiratoires n'ont pas de signification clinique dans le sens où elles ne sont pas associées à un processus pathologique. L'isolement du germe traduit de ce fait une colonisation et non une infection.

Toutefois, même si l'on considère uniquement les patients infectés par *M. xenopi*, le nombre de localisations pulmonaires reste supérieur au nombre de localisations extra-pulmonaires, ce qui s'explique par le principal mode de contamination consistant en l'inhalation d'aérosols contaminés, par une plus faible virulence de *M. xenopi* au niveau des sites extra-pulmonaires, ou encore par les limites du diagnostic microbiologique dans ce type d'infections. En effet, le faible inoculum bactérien présent au niveau des sites extra-pulmonaires infectés peut conduire à un résultat bactériologique faussement négatif (37).

6.2.2.1. Les infections ostéo-articulaires

Les infections ostéo-articulaires à *M. xenopi* sont les formes extra-pulmonaires les plus fréquentes et surviennent tant chez le sujet immunocompétent que chez l'immunodéprimé. De

façon générale, on observe des lésions suppurées et érosives apparaissant tardivement, soit six mois à deux ans après l'inoculation (34). L'analyse des cas publiés dans la littérature a permis de mettre en évidence un certain nombre de facteurs de risques des infections ostéo-articulaires, tels que la corticothérapie, l'administration de médicaments immunosuppresseurs, le lupus érythémateux disséminé, l'existence d'un processus néoplasique et le diabète. Les facteurs prédisposants locaux retrouvés sont les injections intra-articulaires de corticostéroïdes, les prothèses articulaires et les interventions chirurgicales intéressant le rachis (nucléotomie) (74).

Bien qu'étant les infections extra-pulmonaires à *M. xenopi* les plus fréquentes, les infections ostéo-articulaires restent relativement rares si l'on considère le nombre de cas rapportés dans la littérature : un cas d'abcès d'un os cunéiforme chez un patient de 82 ans, une arthrite du genou chez un patient de 71 ans ainsi qu'un autre cas d'arthrite du genou chez un jeune homme de 23 ans (41). Dans ces trois cas, les analyses histologiques ont mis en évidence un granulome avec nécrose caséeuse et les cultures ont permis d'identifier *M. xenopi*. Un cas d'arthrite de l'épaule chez un homme de 44 ans présentant une dermatomyosite a été publié en 1998 (74). Enfin, une ostéomyélite touchant le calcaneum a été rapportée en 1997 chez une fillette de 4 ans déclarée immunocompétente, bien qu'une maladie granulomateuse chronique n'ait pu être exclue (9).

Les infections rachidiennes à *M. xenopi* sont peu fréquentes. Les cas récemment décrits consistent en une infection rachidienne lombaire chez une patiente de 77 ans non immunodéprimée, une spondylodiscite dorsale chez une femme diabétique de 70 ans, une spondylodiscite dorsale chez un patient présentant une silicose et une lymphocytopénie CD4 idiopathique ainsi qu'une spondylodiscite associée à une arthrite touchant l'articulation de

l'épaule chez une femme de 56 ans présentant par ailleurs un lupus érythémateux disséminé (41, 54). Enfin, plus de cinquante cas de spondylodiscites nosocomiales, secondaires à des nucléotomies percutanées ou des chirurgies discales cervicales ou lombaires réalisées entre 1988 et 1993 ont été décrits en France (19, 76).

6.2.2.2. Autres localisations extra-pulmonaires

La littérature comporte très peu de cas d'infections extra-pulmonaires à *M. xenopi* avec des localisations autres qu'ostéo-articulaires. Ainsi ont été rapportés des cas d'infections cutanéo-muqueuses ou intéressant les ganglions lymphatiques, les sinus et l'épididyme (53, 72). Les descriptions les plus récentes concernent d'une part un abcès du muscle psoas chez un homme de 65 ans sans porte d'entrée évidente (46) et d'autre part une parotidite chez un patient de 36 ans atteint par le VIH (4).

6.2.3. Les infections disséminées (27, 45, 67)

M. xenopi est décrit comme un agent potentiel d'infection disséminée chez les sujets atteints de SIDA. La dissémination hématogène et les localisations extra-pulmonaires surviennent lorsque le taux des lymphocytes T CD4+ est inférieur à 50 cellules par mm^3. Ces formes généralisées semblent survenir après colonisation de l'arbre respiratoire mais l'éventualité d'une porte d'entrée digestive ne peut être écartée.

7. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic bactériologique des infections à *M. xenopi* est réalisé en deux étapes : la première consiste à obtenir une primoculture du germe à partir du prélèvement pathologique, la seconde à identifier ce germe par l'étude de ses caractères physiologiques et biochimiques. Chaque étape de ce processus en deux temps souffre de la lenteur de croissance des mycobactéries. Aussi différentes méthodes, encore réservées à des laboratoires spécialisés, ont-elles été développées afin de diminuer le temps nécessaire à la réalisation de l'une ou l'autre de ces étapes.

7.1. Les prélèvements

En cas d'atteinte pulmonaire, les prélèvements sont réalisés de la même manière qu'en cas de suspicion de tuberculose à *M. tuberculosis*, d'autant plus que celle-ci doit être éliminée avant d'envisager le diagnostic d'infection à mycobactérie atypique. Les expectorations, produits d'aspiration bronchique, liquides de lavage broncho-alvéolaire et liquides de lavage gastrique sont les produits les plus fréquemment analysés pour porter le diagnostic de mycobactériose pulmonaire (25). Les expectorations sont contaminées par les germes appartenant à la flore de l'oropharynx, parmi lesquels peuvent se trouver toutes les mycobactéries retrouvées dans l'eau (comme *M. xenopi*) et dans les aliments. Le milieu acide gastrique détruit beaucoup de ces germes mais la plupart des mycobactéries y résiste. Enfin, l'environnement des sécrétions broncho-alvéolaires est stérile mais les conditions de prélèvement facilitent leur contamination secondaire. Par conséquent, ces produits

pathologiques doivent être traités de sorte que les germes saprophytes soient détruits. En pratique courante sont examinés trois échantillons prélevés pendant trois jours successifs. L'isolement de *M. xenopi* sur ces trois échantillons permet d'écarter la possibilité d'une contamination et conduit à la suspicion d'une infection (15).

Les autres prélèvements varient selon le site de l'infection. Il s'agit de ponctions ou biopsies osseuses, ponctions de liquide articulaire, ponctions ou biopsies ganglionnaires et liquides de séreuses.

En cas de suspicion d'infection disséminée chez le sujet immunodéprimé, *M. xenopi* doit être recherché dans le sang. Le prélèvement de sang sur flacon Isolator® permet d'appliquer une technique de centrifugation-lyse, augmentant ainsi la sensibilité de l'hémoculture et permettant la réalisation d'hémocultures quantitatives (14). Ce type d'hémoculture est devenu la méthode de référence pour le diagnostic d'infection disséminée à mycobactérie atypique. Toutefois, en raison de l'existence d'infections disséminées à hémoculture négative, il convient également de réaliser des prélèvements au niveau de la moelle osseuse et des ganglions (58).

Afin de préciser l'origine de la contamination humaine, il peut être utile d'effectuer d'autres prélèvements tels que l'eau des systèmes de distribution d'eau, les liquides de dialyse, les antiseptiques ou les désinfectants.

7.2. L'examen microscopique

Les mycobactéries ont la propriété de retenir les colorants même après action d'acides et d'alcools. La présence de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) peut être détectée par l'examen direct du produit pathologique, après réalisation d'un frottis puis coloration par la technique de Ziehl-Neelsen ou par une méthode utilisant l'auramine (coloration fluorescente). La morphologie des BAAR ne permet pas d'identifier d'emblée une espèce mycobactérienne mais peut constituer un élément d'orientation. En effet, *M. xenopi* apparaît sous forme de très longs bacilles chevelus disposés en paquets d'épingles (25, 63).

Avec un microscope optique, il faut observer au moins 300 champs avant de conclure à un examen direct négatif, ce qui nécessite environ 15 minutes d'observation. La microscopie à fluorescence limite le nombre de champs à observer à 30 et permet ainsi de réduire considérablement le temps de lecture du frottis. La spécificité de l'examen microscopique pour détecter une mycobactérie est proche de 100%. Sa sensibilité est faible puisque le seuil de détection est de 10^3 BAAR par millilitre de produit pathologique (61).

La positivité de l'examen microscopique, en relation avec la présence de nombreuses mycobactéries dans le prélèvement, oriente vers l'existence d'une mycobactériose et non d'une contamination environnementale.

7.3. La culture

7.3.1. Procédé traditionnel (25, 63)

Les produits pathologiques susceptibles de contenir une flore bactérienne associée (expectorations, produits issus de cavités ouvertes) doivent être décontaminés avant tout ensemencement. Différents protocoles peuvent être utilisés : méthode de Petroff à la soude 4%, méthode de Tacquet et Tison au laurylsulfate alcalin, méthode de Kubica utilisant la N-acétyl-cystéine et la soude 2%.

Les produits ainsi obtenus sont ensemencés sur milieux solides à l'œuf comme le milieu de Loewenstein-Jensen ou le milieu de Coletsos. Les milieux sont incubés à 37 et 40°C, cette dernière température assurant une croissance plus rapide de *M. xenopi*. L'incubation est maintenue au minimum 8 semaines. Pendant la première semaine, les milieux sont observés quotidiennement afin de détecter d'une part d'éventuelles contaminations bactériennes et d'autre part la présence de mycobactéries à croissance rapide. Les milieux sont ensuite examinés une à deux fois par semaine jusqu'au terme des 8 semaines. La vitesse d'apparition de la culture est en moyenne de 4 semaines pour *M. xenopi*. Le nombre de colonies doit être noté car l'abondance de germes dans le prélèvement pathologique est un des arguments permettant de distinguer une contamination d'une infection. Il convient de s'assurer de la pureté de la culture avant d'entreprendre les tests d'identification.

Le diagnostic bactériologique d'infection pulmonaire à *M. xenopi* repose sur l'isolement du germe à partir de prélèvements issus du tractus respiratoire et pose le problème de la distinction entre simple colonisation et infection. Une confrontation des données cliniques et biologiques s'avère nécessaire lors de l'isolement de *M. xenopi*. Ainsi, les critères permettant

de considérer la bactérie comme responsable d'une pathologie pulmonaire, d'ailleurs valables lors de l'isolement de toute mycobactérie atypique potentiellement pathogène, sont : la présence de signes cliniques et radiologiques patents, des isolements répétés de cette bactérie (exception faite des prélèvements chirurgicaux et biopsies pulmonaires pour lesquels un seul isolement suffit), la présence de nombreuses colonies sur les milieux de culture, l'absence d'isolement de *M. tuberculosis* et l'exclusion de toute autre cause infectieuse ou néoplasique (34, 42).

7.3.2. Techniques récemment développées

Des systèmes permettant l'obtention plus rapide d'une primoculture et raccourcissant le délai d'isolement et d'identification des mycobactéries ont été développés. Ils sont basés sur l'utilisation de milieux liquides tels que le système automatique Bactec 460® (Becton Dickinson) ou le milieu biphasique MB Chek® (Roche).

L'automate Bactec 460® permet de détecter par radiométrie une culture bactérienne. Le milieu liquide utilisé est le milieu Middlebrook 7H12 supplémenté en acide palmitique marqué au carbone ^{14}C. La croissance bactérienne se traduit par un dégagement de $^{14}CO_2$ mesuré par l'automate (61). L'inoculation des flacons de milieu Bactec 12B® est réalisée à partir de produit pathologique préalablement décontaminé. L'avantage majeur de cette méthode est la réduction du temps nécessaire à l'obtention d'une primoculture. De plus, *M. xenopi* croît dans le milieu liquide Middlebrook 7H12 de façon particulière, mise en évidence après coloration de Ziehl-Neelsen : les bacilles se rassemblent en effet pour former des amas évoquant un oursin ou un nid d'oiseau, permettant une orientation diagnostique précoce (21,

29). La spécificité de la méthode Bactec® est assurée par l'addition d'un mélange d'antibiotiques dans le milieu liquide de croissance. Sa sensibilité a été comparée à la culture sur milieu de Loewenstein-Jensen : la méthode Bactec® permet d'isoler 70 à 95% des souches de mycobactéries et afin d'assurer 100% des isolements, il conviendrait d'ensemencer plusieurs flacons de milieu liquide en parallèle et de les incuber à une température de 40°C.

Le système biphasique MB Chek® est composé d'un flacon de milieu liquide Middlebrook 7H12 et de trois lames de milieux solides : milieu de Loewenstein-Jensen modifié, gélose Middlebrook 7H11 et gélose chocolat (61). L'atmosphère du flacon est enrichie en CO_2. Après décontamination selon les méthodes usuelles, le produit pathologique est introduit dans le milieu liquide, les lames sont fixées au flacon et après 48 heures d'incubation, les milieux solides sont inondés par inversion du système. L'apparition de la croissance est observée deux fois par semaine. La spécificité est assurée par l'adjonction d'un mélange d'antibiotiques au milieu liquide. De plus, la gélose chocolat assure la détection des germes non mycobactériens qui apparaissent sur ce milieu en 24 ou 48 heures. La lame de milieu gélosé Middlebrook 7H11 permet quant à elle de visualiser les colonies de mycobactéries et donc de détecter d'éventuelles cultures mixtes.

7.4. L'identification

L'identification de *M. xenopi* repose sur l'étude de ses caractères culturaux et biochimiques. Ces tests sont parfois insuffisants pour différencier des espèces phénotypiquement proches, imposant un recours à des techniques chromatographiques ou à la biologie moléculaire.

7.4.1. Les méthodes conventionnelles (2, 7, 25, 63)

L'identification des espèces de mycobactéries atypiques repose principalement sur les critères suivants : délai de culture, morphologie des colonies, production de pigment, croissance sur gélose ordinaire, température optimale de croissance, production de niacine, activité catalasique à 22°C et à 68°C, détection des activités enzymatiques nitrate réductase, glucosidase, galactosidase, uréase, arylsulfatase, phosphatase acide et enfin hydrolyse du Tween 80. D'autres tests peuvent être pratiqués, recherchant une tolérance au chlorure de sodium 5%, une réduction du tellurite, une activité pyrazinamidase, l'attaque du citrate de fer ammoniacal. La sensibilité à certains agents anti-bactériens (thiosemicarbazone,...) peut également être étudiée dans un but diagnostique.

L'identification de *M. xenopi* à l'aide d'épreuves de croissance en présence de substances inhibitrices et de tests biochimiques fait apparaître uniquement deux tests positifs, à savoir les activités enzymatiques catalase thermostable et arylsulfatase. L'activité catalasique thermostable se traduit par un dégagement gazeux lors de la mise en contact d'une suspension bactérienne portée à 68°C pendant 15 minutes avec de l'eau oxygénée. La détection de l'arylsulfatase repose sur la libération de phénolphtaléine à partir du complexe phénolphtaléine disulfate tripotassique. Les tests biochimiques sont des tests de réalisation et d'interprétation délicates, qui nécessitent d'être validés par des témoins positifs et négatifs testés en parallèle, ce qui impose l'entretien de souches de référence. La variation intrinsèque de certaines souches peut conduire à des résultats inhabituels. Aussi est-il nécessaire d'étudier un grand nombre de caractères afin d'obtenir un résultat discriminant.

Le diagnostic différentiel de *M. xenopi* avec les espèces scotochromogènes à croissance lente est aisé en raison de sa croissance à 42°C et de la présence d'une arylsulfatase. Par contre, la distinction des souches de *M. xenopi* non pigmentées avec les souches non chromogènes à croissance lente, comme *M. avium*, est plus complexe et nécessite la comparaison de nombreux tests (tableau II). Ainsi, plusieurs cas de pneumonies et bactériémies à *M. celatum*, une espèce récemment identifiée, ont été attribués par erreur à *M. xenopi* (56, 77). Les tests biochimiques ont en effet faussement conduit à l'identification de *M. xenopi*, seules l'analyse génomique et les techniques chromatographiques ont permis de corriger le diagnostic bactériologique.

7.4.2. Les méthodes d'identification spécialisées

Les limites des techniques conventionnelles d'identification des mycobactéries et de *M. xenopi* en particulier ont conduit à la mise au point de méthodes plus discriminantes, réservées à des laboratoires spécialisés.

7.4.2.1. Les techniques chromatographiques

Les acides gras et les acides mycoliques, qui sont des constituants majeurs de la paroi des mycobactéries, sont utilisés comme marqueurs d'identification. Les acides mycoliques synthétisés sont porteurs de fonctions oxygénées tels que des groupes méthoxylés, cétoniques, époxydiques ou d'une deuxième fonction acide. Par chromatographie en couche mince ou par chromatographie liquide haute performance, différents profils en acides mycoliques sont mis en évidence selon l'espèce mycobactérienne et le profil est identique pour toutes les souches

d'une même espèce. Ainsi, *M. xenopi* est identifié par la mise en évidence d'acides mycoliques de type I et VI (8, 63).

Tableau II

Propriétés des mycobactéries le plus fréquemment isolées (63)

Mycobacterium sp	Pigment		Relations thermiques			Temps (jours)		Propriétés biochimiques							Composition en acides mycoliques					
	OBS	LUM	30 C	37 C	42 C	7	10	NIA	NIT	TL	68 C	T80	URE	ARY	I	II	III	IV	V	VI
tuberculosis[2]	-	-	(+)	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+		+	+		
bovis	-	-	(+)	(+)	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+		+	+		
africanum	-	-	(+)	(+)	-	-	+	x	x	+	-	x	x	-	+		+	+		
BCG	-	-	(+)	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+			+		
kansasii	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	x	x	+		+	+		
marinum	-	+	+	x	-	x	+	x	-	+	(+)	+	-	+	+		+	+		
szulgai	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+		+	+		
gordonae	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	x	-	+		+	+		
xenopi	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+					+
flavescens	+	+	+	+	-	x	+	-	+	+	+	+	-	+	+					+
avium intracellulare[3]	-	-	-	+	x	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+			+		+
scrofulaceum[3]	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+			+		+
malmoense	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+		+		
simiae	-	x	(+)	+	x	-	+	x	-	+	+	-	+	-	+	+		+		
asiaticum	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+		+	+		
terrae	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+					+
gastri	-	-	+	+	-	-	+	-	x	+	-	+	-	-	+		+	+		
triviale	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+					
nonchromogenicum	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+					+
fortuitum[4]	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+			-	+	(+)			+	
peregrinum[4]	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+			-	+	(+)			+	
chelonae[4]	-	-	+	x	-	+	+	x	-	+	(+)			-	+	+				
abscessus[4]	-	-	+	x	-	+	+	x	-	+	(+)			-	+	+				
fallax	-	-	+	(+)	-	+	+								+					
vaccae	+	+	+	+	-	+	+								+	+		+		+
senegalense	-	-	+	+	-	+	+								+				+	
thermoresistibile	+	+	-	+	+	+	+								+	(+)	+	+		
phlei	+	+	+	+	+	+	+								+			+		+
smegmatis	-	-	+	+	+	+	+								+				+	
ulcerans	-	-	+	-	-	-	+								+		+	+		
leprae[5]			-	-	-										+			+		
paratuberculosis[6]	-	-	-	+	-	-	+								+			+		+
haemophilum[7]	-	-	+	-	-	-	+								+		+	+		

+ : Résultat positif - : Résultat négatif (+) : Résultat tardif ou faible X : Résultat très variable OBS : pigmentation à l'obscurité. LUM : pigmentation à la lumière. NIA : production de niacine. NIT : nitrate réductase. TL : catalase à la température du laboratoire 68 C : catalase à 68 C. T80 : hydrolyse du Tween 80 à 10 jours URE : urease en 18 h. ARY : arylsulfatase en 3 jours.

1 Le tableau ne montre que les caractères utiles au diagnostic différentiel 2 *M tuberculosis* mycobactérie de croissance lente (4-6 semaines) non chromogène, formant des colonies eugonniques (rugueuses en "chou-fleur"), niacine positive, nitrate réductase positive, catalase faible et thermolabile 3 Complexe MAIS (*M avium-intracellulare-scrofulaceum*) 4 Complexe *fortuitum*. 5 *M leprae* ne se développe pas sur les milieux artificiels 6 *M paratuberculosis* ne se développe que sur des milieux contenant de la mycobactine 7 *M haemophilum* ne se développe que sur des milieux au sang ou contenant du citrate de fer ammoniacal.

Les acides mycoliques sont des molécules de grande taille et ne peuvent donc être volatilisés et analysés par chromatographie en phase gazeuse. Cependant, dans des conditions pyrolytiques d'injection (la température de l'injecteur étant fixée à 320°C), la molécule subit une cassure au niveau du carbone alpha. L'acide gras ainsi libéré est volatilisable et constitue un marqueur taxonomique supplémentaire. Ainsi, si de nombreuses espèces mycobactériennes présentent un ester de pyrolyse à 24 atomes de carbone, certaines espèces comme *M. xenopi*, *M. tuberculosis*, *M. bovis* et *M. africanum* se distinguent par la formation d'un ester à 26 atomes de carbone (61).

Les glycolipides des mycobactéries peuvent être analysés à partir d'un extrait lipidique brut par chromatographie en couche mince. Cette technique permet d'identifier *M. xenopi* par la présence de lipooligosaccharides spécifiques dérivés de tréhalose (61). Enfin, l'analyse par chromatographie en phase gazeuse des alcools cellulaires met en évidence la présence chez *M. xenopi* d'un alcool secondaire spécifique d'espèce, le 2-docosanol (31, 32).

7.4.2.2. Les techniques de biologie moléculaire

Les sondes nucléiques constituent une avancée technologique importante, permettant un diagnostic rapide des infections à mycobactéries. Si leur spécificité est excellente, leur sensibilité insuffisante n'autorise leur utilisation qu'à partir d'une culture pure. Ce manque de sensibilité peut être limité en utilisant la sonde nucléique après une étape d'amplification génique par polymérisation en chaîne ou polymerase chain reaction (PCR) (44, 75).

Ainsi, Fauville-Dufaux *et al.* ont décrit une technique rapide d'identification de *M. xenopi* réalisée sur des colonies bactériennes obtenues sur milieu de culture solide ou à partir d'une culture en milieu liquide Bactec 12B®. Le principe repose sur l'amplification par PCR d'un fragment de 584 pb du gène codant l'ARN ribosomial 16S, le fragment amplifié étant ensuite révélé par hybridation d'une sonde oligonucléotidique spécifique. Ce système s'est montré très sensible et totalement spécifique. Ainsi, le test s'est révélé positif pour 69 souches de *M. xenopi* identifiées par leurs caractères biochimiques et leur profil chromatographique obtenu par chromatographie en phase gazeuse alors que le test s'est montré négatif pour 92 souches appartenant à d'autres espèces mycobactériennes. Par ailleurs, la limite de détection a été évaluée à 30 fg d'ADN cible correspondant à 5 à 10 génomes *M. xenopi* (18).

Picardeau et Vincent ont mis au point un procédé d'identification de *M. xenopi* utilisant une sonde nucléique obtenue par amplification par PCR d'un fragment d'ADN spécifique de 263 pb et marquage du produit d'amplification à la peroxydase. Cette sonde est destinée à être hybridée à l'ADN bactérien à étudier, après que celui-ci a été extrait et digéré par une enzyme de restriction, les fragments de digestion étant séparés par électrophorèse puis transférés sur une membrane de nylon selon la technique de Southern. La spécificité de la technique est excellente puisqu'aucune hybridation de la sonde n'a été détectée avec le génome de 28 souches appartenant à 21 espèces mycobactériennes différentes. La limite de détection, évaluée à 10^3 cellules, est suffisante puisqu'une colonie correspond à 10^8 bactéries (43).

8. TRAITEMENT

8.1. Méthodes d'études de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des mycobactéries et de *M. xenopi* en particulier a un intérêt discuté. La recommandation actuelle est en effet de traiter une mycobactériose en fonction de l'espèce mycobactérienne impliquée et non en fonction de la sensibilité de la souche isolée chez le malade à traiter. Cette attitude est soutenue par les grandes discordances qui existent entre l'activité *in vitro* d'un antibiotique et son efficacité clinique, le germe étant intra-cellulaire, ainsi que par le délai nécessaire à la réalisation de l'antibiogramme. Les résultats de l'antibiogramme sont cependant nécessaires pour guider le choix thérapeutique en cas d'échec de l'antibiothérapie de première intention (14).

Les méthodes d'étude de la sensibilité de *M. xenopi* aux antibiotiques consistent à déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de chaque antibiotique pour la souche à étudier. Il s'agit de mettre en contact un inoculum bactérien avec des concentrations croissantes d'antibiotiques afin de déterminer la CMI, définie pour les mycobactéries comme la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle l'inhibition de croissance est supérieure à 99% (39, 49).

La détermination de CMI peut être réalisée en milieu solide ou en milieu liquide. Les milieux solides utilisables sont le milieu de Middlebrook 7H10 supplémenté en OADC (Oleique acid, Albumin, Dextrose, Catalase) et le milieu de Loewenstein-Jensen. Les CMI peuvent également être déterminées en milieu liquide, en utilisant la méthode radiométrique

Bactec 460TB®. Cette méthode est cependant moins répandue que la méthode conventionnelle en milieu solide car elle nécessite l'emploi d'un automate ainsi qu'une l'autorisation d'utilisation de radio-éléments. Aussi la quasi-totalité des données concernant la sensibilité aux antibiotiques de *M. xenopi* ont-elles été obtenues par détermination de CMI en milieu solide.

8.2. Choix des antibiotiques

Les infections dues à *M. xenopi* sont difficiles à traiter. On ne peut actuellement que suivre les règles générales du traitement antimycobactérien, associant plusieurs antibiotiques et pour une durée suffisamment longue, poursuivie un an après négativation des prélèvements. La réponse au traitement est imprévisible et indépendante de l'antibiogramme, du type de maladie sous-jacente et de la gravité de l'atteinte. Des guérisons complètes ont été observées mais les récidives sont fréquentes, plusieurs années après l'arrêt du traitement. Chez certains patients apparemment guéris de leur mycobactériose pulmonaire, un aspergillome intra-cavitaire peut survenir comme complication secondaire, jusqu'à cinq ans après le diagnostic initial, rendant le pronostic défavorable. Aucune guérison spontanée n'aurait été observée. La réponse à une deuxième chimiothérapie est généralement mauvaise. Dans les cas résistants ou récidivants après chimiothérapie, on peut recourir à la chirurgie, avec des résultats satisfaisants lorsque la lésion est localisée (12, 13).

Les antibiotiques dont les CMI sont très inférieures aux concentrations sériques maximales, et qui sont donc théoriquement actifs *in vivo*, sont la clarithromycine, les fluoroquinolones (ofloxacine, ciprofloxacine, sparfloxacine) et l'amikacine. Les antibiotiques qui ont des CMI

très proches mais un peu inférieures aux concentrations sériques maximales sont la rifampicine, la rifabutine et l'isoniazide. Les CMI de ces trois antibiotiques sont nettement plus élevées pour *M. xenopi* que pour *M. tuberculosis*. Les CMI de l'éthambutol sont supérieures à la concentration sérique maximale (12).

Aucun protocole n'étant validé à l'heure actuelle pour le traitement des infections pulmonaires ou disséminées à *M. xenopi*, le choix thérapeutique est réalisé par analogie aux infections à *M. avium* dont le traitement se base notamment sur les résultats de l'essai thérapeutique national Curavium (36). Ainsi, clarithromycine, rifabutine, amikacine et fluoroquinolones sont utilisées en association aux antituberculeux classiques : isoniazide, rifampicine ou éthambutol, afin de réaliser une tri- voire une quadri-thérapie (13).

Suite à l'épidémie de spondylodiscites nosocomiales survenue récemment dans une clinique parisienne, un groupe d'experts, réunis sous l'égide du Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN) Paris-Nord, a émis des recommandations pour le traitement de ce type d'infection. Ainsi, sauf contre-indication formelle à l'utilisation de ces antibiotiques, les experts recommandent d'utiliser en première intention une association comprenant la clarithromycine (1,5 g/j si poids < 50kg, 2 à 2,5 g/j si poids > 50kg), une fluoroquinolone de type ofloxacine (13 mg/kg/j) ou ciprofloxacine (25 à 35 mg/kg/j), la rifampicine (10 mg/kg/j) et l'éthambutol (20 mg/kg/j), la rifampicine pouvant être remplacée par la rifabutine (5 mg/kg/j). Les autres antibiotiques habituellement proposés dans le traitement des infections à mycobactéries typiques ou atypiques ne sont pas recommandés en première intention car leur efficacité *in vitro* sur *M. xenopi* est médiocre ou discutée. Concernant la durée de traitement, un traitement d'attaque est recommandé pendant 6 mois avec au minimum quatre antibiotiques. Un traitement d'entretien doit être poursuivi pendant

au moins les douze mois suivants, avec deux ou trois molécules et comportant si possible la clarithromycine et une fluoroquinolone. La durée de traitement est ainsi fixée à 18 mois au minimum (1).

SECONDE PARTIE :

ETUDE DE LA SENSIBILITE DE *Mycobacterium xenopi* AUX ANTIBIOTIQUES

1. INTRODUCTION

L'étude de la sensibilité *in vitro* de *M. xenopi* aux antibiotiques anti-tuberculeux est rendue nécessaire d'une part par l'existence de souches résistantes, d'autre part par l'absence de consensus quant au protocole thérapeutique à appliquer lors d'une infection à *M. xenopi.*

La méthode des proportions, qui consiste à déterminer le pourcentage de mutants résistants présents dans une population bactérienne sauvage et qui a été mise au point pour mesurer la sensibilité des bacilles de la tuberculose aux antibiotiques, n'est pas adaptée à *M. xenopi.* En effet, les proportions critiques, qui correspondent à la proportion de mutants résistants à une certaine concentration d'antibiotique et normalement présents au sein d'une population bactérienne, ne sont pas fixées pour les mycobactéries atypiques. Par conséquent, la sensibilité *in vitro* de *M. xenopi* aux antibiotiques ne peut qu'être appréciée par la détermination de CMI (39).

Les données de la littérature relatives à l'activité des antibiotiques sur *M. xenopi* sont peu abondantes. Aussi avons-nous entrepris de déterminer les CMI de 5 antibiotiques sur 14 souches *M. xenopi.*

2. MATERIEL ET METHODE

2.1. Souches bactériennes

Nous avons étudié 14 souches *M. xenopi* isolées au laboratoire de bactériologie du CHU de Nancy, dont 13 isolats cliniques et 1 isolat tellurique (souche FIC). Les informations concernant les isolats cliniques sont rassemblées dans le tableau III.

L'identification des souches a été réalisée selon les techniques habituelles : coloration de Ziehl-Neelsen permettant la mise en évidence de BAAR puis étude des caractères culturaux et biochimiques (63).

Les souches ont été entretenues sur milieu de Loewenstein-Jensen (Sanofi Diagnostics Pasteur, France) incubé à 40°C, température optimale de croissance de *M. xenopi*.

En raison de l'inexistence de souche *M. xenopi* de référence de sensibilité connue aux antibiotiques, les souches de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ont été utilisées.

Tableau III

Isolats cliniques de *Mycobacterium xenopi* étudiés

	Souche	Nature du prélèvement	Sexe du malade	Age (ans)
1	BOU	LBA	M	47
2	PED	LBA	M	35
3	REI	Urine	M	37
4	DIE	AB	M	69
5	MAK	AB	M	66
6	FUC	nc	M	81
7	FRA	Expectoration	F	72
8	KIE	nc	M	60
9	DER	Expectoration	F	72
10	FNI	Urine	F	41
11	MIL	nc	nc	nc
12	LAY	nc	M	58
13	HEC	nc	F	49

LBA : lavage broncho-alvéolaire, AB : aspiration bronchique

M : masculin, F : féminin

nc : non connu.

2.2. Méthode de détermination des CMI

Nous avons testé l'activité de cinq antibiotiques : l'amikacine, la clarithromycine, l'éthambutol, l'ofloxacine et la rifampicine (tableau IV). Ils sont décrits dans la littérature comme actifs sur les mycobactéries atypiques, bien que leur activité sur *M. xenopi* ait peu été étudiée. Ces antibiotiques sont ceux que recommandent de tester les experts du CCLIN Paris-Nord, dans le cadre du suivi de spondylodiscites nosocomiales.

Les solutions mères d'antibiotiques ont été préparées à partir de poudre titrée délivrée par les différents laboratoires, en respectant la nature du diluant préconisé par le fabriquant.

Tableau IV

Antibiotiques étudiés

Nature de l'antibiotique	Laboratoire	Numéro de lot	Titre de la poudre	Diluant préconisé
amikacine	Bristol Myers Squibb	SL005	78%	eau
clarithromycine	Abbott	30453TC	100%	méthanol
éthambutol	Lederle	EX95171	99,7%	eau
ofloxacine	Roussel Uclaf	3G1013	100%	eau + soude 0,1 %
rifampicine	Marion Merrel	C0335	100%	méthanol

Des dilutions sériées de raison 2 de chaque antibiotique ont été incorporées sous un volume de 1 ml dans 9 ml de milieu Middlebrook 7H10 (Difco Laboratories, USA) maintenu en

surfusion à 56°C et supplémenté à raison de 10% en complexe OADC (Oleique acid, Albumin, Dextrose, Catalase - Difco Laboratories, USA), de façon à obtenir les concentrations finales en antibiotique suivantes : amikacine : 0,5 à 16 mg/L, clarithromycine : 0,06 à 2 mg/L, éthambutol : 0,5 à 16 mg/L, ofloxacine : 0,12 à 4 mg/L et rifampicine : 0,5 à 16mg/L.

A partir de chaque souche cultivée sur milieu de Loewenstein-Jensen incubé à 40°C pendant 5 semaines, une suspension bactérienne titrant 1 mg/mL est réalisée dans l'eau distillée stérile. Cette suspension est ensuite diluée dans de l'eau distillée stérile en progression géométrique de raison 10 jusqu'à 10^{-5}.

Vingt-cinq microlitres de la suspension bactérienne correspondant à la dilution 10^{-3} sont ensemencés sur les milieux contenant les différentes dilutions de l'antibiotique à tester et sur un milieu témoin sans antibiotique. Vingt-cinq microlitres de la suspension bactérienne correspondant à la dilution 10^{-5} sont ensemencés sur un milieu témoin sans antibiotique.

La lecture est réalisée après 5 semaines d'incubation des milieux solides en atmosphère humide à 40°C. La numération des colonies sur chacun des milieux permet de déterminer la CMI définie comme la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle l'inhibition de croissance est supérieure à 99% de l'inoculum de départ.

3. RESULTATS

Les CMI 90% sont respectivement de 8 mg/L pour l'amikacine, 0,25 mg/L pour la clarithromycine et 2 mg/L pour l'ofloxacine, soit très inférieures aux concentrations sériques

de ces antibiotiques. Les CMI 90% de l'éthambutol et de la rifampicine sont supérieures à 16 mg/L et sont donc supérieures aux concentrations sériques des antibiotiques (tableau V).

Tableau V

CMI (mg/L) obtenues pour 14 souches *M. xenopi*

Souches	Amikacine	Clarithromycine	Ethambutol	Ofloxacine	Rifampicine
BOU	2	0.25	16	1	4
PED	8	0,25	>16	1	>16
REI	1	0,25	>16	0,5	1
RIE	1	0,06	>16	2	2
MAK	2	0,125	>16	2	8
FUC	1	0,125	>16	2	0,5
FRA	1	0,06	>16	1	2
KIE	2	0,125	>16	1	≤0,5
DER	2	0,125	>16	2	>16
FNI	1	≤0,06	>16	0,5	≤0,5
MIL	1	0,125	>16	1	1
LAY	1	0,06	>16	1	2
HEC	1	0,125	>16	1	≤0,5
FIC	8	1	>16	>4	>16

4. DISCUSSION

Du fait de l'inadéquation de la méthode des proportions, seule la détermination des CMI permet d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques des mycobactéries atypiques et de *M. xenopi* en particulier. Les valeurs ainsi obtenues sont cependant d'interprétation difficile car il n'existe pas de concentrations critiques définies permettant de classer les souches selon les catégories Sensible, Intermédiaire ou Résistant. De plus, la localisation intra-cellulaire des mycobactéries ne permet pas de prédire l'efficacité *in vivo* des antibiotiques à partir de l'activité déterminée *in vitro*. La détermination des CMI reste toutefois indispensable pour estimer le niveau de sensibilité aux antibiotiques d'une souche mycobactérienne et pour modifier de façon rationnelle une antibiothérapie de première intention inefficace.

Les résultats publiés de CMI destinés à estimer la sensibilité de *M. xenopi* à divers antibiotiques sont rares et d'autant plus difficiles à comparer que l'influence de la méthodologie sur l'obtention de ces résultats est bien établie. Ils ont en effet été obtenus en utilisant des milieux de cultures variés tels que le milieu liquide Middlebrook 7H9, les milieux gélosés Middlebrook 7H10 et 7H11 ou encore les milieux à l'œuf coagulé de type Loewenstein-Jensen et Coletsos. Or, la composition du milieu influence les résultats de CMI (20). Ont été incriminées les différences de pH existant selon les milieux ainsi que la possible perte d'activité de certaines molécules comme les fluoroquinolones, par liaison à l'albumine présente dans les milieux à l'œuf coagulé.

Concernant l'amikacine, la seule étude publiée repose sur l'utilisation de milieu liquide Middlebrook 7H9 et fait état de CMI inférieures à 4 mg/L, soit une bonne corrélation avec nos résultats compris entre 1 et 2 mg/L pour 12 des souches étudiées (55). Deux souches

présentent une CMI à 8mg/L, la souche FIC environnementale et la souche clinique PED. Cette dernière semble également moins sensible à l'éthambutol (CMI>16 mg/L) et à la rifampicine (CMI>16 mg/L). La CMI de l'amikacine pour l'ensemble des souches étudiées reste inférieure aux taux sériques habituels, soit 15 à 25 mg/L. La CMI 90% est de 8 mg/L. L'intérêt de l'utilisation de l'amikacine dans le traitement des infections à *M. xenopi* repose, par analogie au traitement des infections à *M. avium* chez les patients touchés par le VIH, sur le fait que l'aminoside permet de prévenir la sélection de mutants résistants à la clarithromycine et de potentialiser l'activité bactéricide de ce macrolide (24).

Les macrolides se caractérisent par une remarquable activité sur *M. xenopi* puisque les CMI obtenues pour l'érythromycine et la roxithromycine sont 64 fois plus basses que celles obtenues avec ces mêmes antibiotiques sur *M. avium* (35). Dans notre étude, la CMI 90% de la clarithromycine atteint 0,25 mg/L, les CMI s'échelonnant de 0,06 à 0,25 mg/L pour les souches isolées de malades. Celles-ci peuvent donc être considérées comme sensibles puisque les CMI sont nettement inférieures aux concentrations sériques de la clarithromycine, soit 2 à 4 mg/L. Nos résultats confirment ceux publiés par Berlin *et al.* selon lesquels les CMI de la clarithromycine déterminées sur milieu gélosé sont inférieures à 0,5 mg/l (6). Par contre, la souche environnementale FIC, avec une CMI à 1 mg/L, est moins sensible que les autres souches et ce phénomène s'accompagne d'une moindre sensibilité à l'ensemble des autres antibiotiques étudiés. Il est à noter cependant que la résistance des mycobactéries aux macrolides est croisée à l'ensemble des macrolides mais qu'elle ne laisse pas présager de la sensibilité aux autres antibiotiques (64).

Les CMI de l'éthambutol sont supérieures ou égales à 16 mg/L pour l'ensemble des souches étudiées, d'où une CMI 90% supérieure à 16 mg/L. Ces données traduisent une résistance *in*

vitro de *M. xenopi* à cet antibiotique, les concentrations sériques de l'éthambutol étant d'environ 6 mg/L. Ces résultats sont confirmés par ceux donnés par le CCLIN Paris-Nord qui retrouve des CMI comprises entre 10 et 20 mg/L (1). Malgré cette résistance *in vitro*, l'éthambutol est inclus dans la plupart des polychimiothérapies destinées à traiter des infections à mycobactéries atypiques et à *M. xenopi* en particulier, en raison de son efficacité clinique. Bien que le mécanisme demeure inconnu à ce jour, il semble qu'il potentialise l'activité sur *M. xenopi* des autres antibiotiques qui lui sont associés (65).

Concernant l'ofloxacine, les CMI que nous retrouvons pour les isolats cliniques varient de 0,5 à 2 mg/L. La souche environnementale FIC présente une CMI supérieure à 4 mg/L et peut être considérée comme résistante à l'ofloxacine étant donné que la CMI est proche des concentrations thérapeutiques, soit 5 à 6 mg/L. Nos résultats sont comparables à ceux publiés dans différentes études, soit 0,3 à 1 mg/L pour une détermination en milieu gélosé Middlebrook (48, 59, 73). Une étude de l'activité de l'ofloxacine sur des souches *M. xenopi* isolées de malades retrouve une CMI 100% de 1 mg/L (10). Nos résultats sont corrélés avec ces dernières données puisque la CMI 100% que nous déterminons pour nos 13 isolats cliniques est de 2 mg/L.

Les CMI de la rifampicine varient de moins de 0,5 mg/L à plus de 16 mg/L, suggérant une hétérogénéité de l'activité de cet antibiotique en fonction des souches. Nos résultats sont corrélés avec les résultats publiés par Truffot-Pernot *et al.*, qui s'échelonnent de 1 à plus de 8 mg/L en milieu gélosé (57). La concentration sérique de la rifampicine étant de 8 à 10 mg/L, 4 souches parmi les 14 souches étudiées semblent résistantes à l'antibiotique. La résistance observée *in vitro* ne permettant pas de conclure à une inefficacité *in vivo*, l'existence de souches résistantes à la rifampicine n'autorise pas à écarter cet antibiotique des protocoles de

traitement de première intention des infections à *M. xenopi*. Par contre, en cas d'échec clinique associé à une résistance objectivée par une CMI élevée, il serait licite d'utiliser à la place de la rifampicine un autre antibiotique actif *in vitro*.

CONCLUSION

Les infections à *M. xenopi* posent un réel problème thérapeutique. Du fait d'un nombre de cas limités et intéressant des sites infectés différents (pathologie pulmonaire et pathologie ostéo-articulaire essentiellement), nous ne disposons d'aucun consensus thérapeutique. Par ailleurs, la résistance de *M. xenopi* à certains antibiotiques et la diffusion limitée de certains antibiotiques au niveau ostéo-articulaire limitent considérablement le choix thérapeutique.

Bien que l'action d'un antibiotique évaluée *in vitro* ne permette pas de prédire son activité *in vivo*, en raison d'une part de la localisation intra-cellulaire de *M. xenopi* et d'autre part des problèmes de diffusion tissulaire des antibiotiques, il est intéressant d'étudier *in vitro* la sensibilité d'une souche isolée. Cette étude permet de connaître le niveau de sensibilité de la souche et donc de distinguer une souche sauvage d'une souche sélectionnée, résistante à un ou plusieurs antibiotiques. Ces éléments permettent d'orienter le choix thérapeutique, notamment lorsque l'antibiothérapie de première intention se montre inefficace.

La sensibilité des 14 souches *M. xenopi* étudiées semble homogène pour l'amikacine, la clarithromycine, l'éthambutol et l'ofloxacine, contrairement à la rifampicine. Nos résultats confirment les données déjà publiées (6, 48, 55, 59, 73), à savoir les CMI de l'amikacine, la clarithromycine et l'ofloxacine sont très inférieures aux concentrations sériques habituellement obtenues chez l'homme, ce qui justifie leur utilisation dans le traitement probabiliste des infections à *M. xenopi*. L'éthambutol se montre *in vitro* inactif sur l'ensemble des souches étudiées mais son utilisation thérapeutique se fonde sur son efficacité clinique. Enfin, les CMI de la rifampicine sont variables selon les souches. L'existence de souches pour lesquelles la CMI de la rifampicine est proche des concentrations sériques peut expliquer certains échecs thérapeutiques et doit conduire à la substitution de cet antibiotique par un autre antibiotique actif *in vitro*. Cependant, le faible nombre de souches étudiées et l'absence

de corrélation étroite entre les résultats obtenus *in vitro* et ceux observés *in vivo* ne justifie pas l'abandon de la rifampicine dans le traitement probabiliste des infections à *M. xenopi*.

Bien que *M. xenopi* soit rarement isolé dans les laboratoires de bactériologie, il serait intéressant d'évaluer l'activité des antibiotiques sur un grand nombre de souches selon une méthodologie standardisée et éprouvée, ce qui est désormais rendu possible par le travail du groupe français Mycobactéries Azay, chargé de la rédaction du Guide de Bonne Exécution des Analyses en mycobactériologie. Une telle étude, nécessairement multicentrique, pourrait en effet permettre d'obtenir des résultats de CMI plus reproductibles et statistiquement exploitables, destinés à définir une meilleure corrélation clinico-biologique facilitant le choix thérapeutique.

BIBLIOTHÈQUE
PHARMACIE
ODONTOLOGIE
NANCY

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

1. ALFANDARI S.

Recommandations du C-CLIN Paris Nord pour le diagnostic et le traitement des infections ostéo-articulaires à *Mycobacterium xenopi.*

Méd. Mal. Inf., 1998 ; 28 : 231-234.

2. AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F., MONTEIL H.

Autres mycobactéries dites atypiques.

In Bactériologie Médicale, 2ème édition, 1992.

Ellipses, pp. 412-423.

3. BENET J.J.

Les infections à mycobactéries atypiques chez l'animal.

Méd. Mal. Inf., 1991 ; 21 : 26-34.

4. BENHARRATS I., JACOB L., TAULERA O.

Parotidite à mycobactéries et infection par le VIH.

Rev. Méd. Interne, 1998 ; 19 : 676-677.

5. BENNET N., PETERSON D.E., JOHNSON D.R., HALL W.N., ROBINSON-DUNN B., DIETRICH S.

Bronchoscopy-associated *Mycobacterium xenopi* pseudoinfections

J. Respir. Crit. Care Med., 1994 ; 150 : 245-250.

6. BERLIN O.G.W., YOUNG L.S., FLOYD-REISING S.A., BRUCKNER D.A.

Comparative *in vitro* activity of the new macrolide A56268 against Mycobacteria.

Eur. J. Clin. Microbiol., 1987 ; 6 : 486-487.

7. BOURGOIN A., AGIUS G.

Le point sur les méthodes classiques d'identification des mycobactéries.

Revue française des laboratoires, 1995 ; 273 : 21-26.

8. BUTLER W.R., THIBERT L., KILBURN J.O.

Identification of *Mycobacterium avium* complex strains and some similar species by high-performance liquid chromatography.

J. Clin. Microbiol, 1992 ; 30 : 2698-2704.

9. CLARCK J.E., ABINUN M., FLOOD T.J., CANT A.J.

Mycobacterium xenopi osteomyelitis.

Pediatr. Infect. Dis., 1997 ; 16 : 1011.

10. DAILLOUX M., PETITPAIN N., HENRY C., WEBER M.

Détermination *in vitro* de la sensibilité des mycobactéries aux fluoroquinolones.

Path. Biol., 1989 ; 37 : 346-349.

11. DAILLOUX M., LAURAIN C., DAUENDORFFER J.-N., HARTEMANN P.

Mycobacterium xenopi.

Hygienes, 1998 ; 6 (1) : 27-29.

12. DAUTZENBERG B., MIHALTAN F.

Traitement des mycobactérioses à mycobactéries non tuberculeuses.

Méd. Mal. Inf., 1991 ; 21 : 115-120.

13. DAUTZENBERG B.

Traitement des infections à mycobactéries atypiques.

Méd. Hyg., 1993 ; 51 : 933-934.

14. DAUTZENBERG B., MERCAT A.

Mycobactérioses atypiques.

Presse Méd., 1994 ; 23 : 1483-1488.

15. DAVID H.L.

Diagnostic bactériologique des infections à mycobactéries atypiques.

Méd. Mal. Inf., 1991 ; 21 : 82-87.

16. DE COSTER C., VERSTRAETEN J.M., DUMORTIER P., DE VUYST P.

Atypical mycobacteriosis as a complication of talc pneumoconiosis.

Eur. Respir. J., 1996 ; 9 : 1757-1759.

17. DESBORDES-LIZE J., FOUYE G., LELIEUR G.M.

Contribution à l'étude de *Mycobacterium xenopi* à l'occasion d'une importante endémie hospitalière.

Poumon Cœur, 1970 ; 26 : 1141-1182.

18. FAUVILLE-DUFAUX M., MAES N., SEVERIN E., FARIN C., SERRUYS E., STRUELENS M., YOUNES N., VINCKE J.-P., DE VOS M.-J., BOLLEN A., GODFROID E.

Rapid identification of *Mycobacterium xenopi* from bacterial colonies or Bactec culture by the polymerase chain reaction and a luminescent sandwich hybridization assay.

Res. Microbiol., 1995 ; 146 : 349-356.

19. FROIDEVAUX D., CLAUDEPIERRE P., BRUGIERES P., LARGET-PIET B., CHEVALIER X.

Iatrogenically induced spondylodiskitis due to *Mycobacterium xenopi* in an immunocompetent patient.

Clin. Infect. Dis., 1996 ; 22 : 723-724.

20. GARCIA-RODRIGUEZ J.A., GOMEZ GARCIA A.C.

In-vitro activities of quinolones against mycobacteria.

J. Antimicrob. Chemother., 1993 ; 32 : 797-808.

21. GONZALES J., TUDO G., GOMEZ J., GARCIA A., NAVARRO M., JIMENEZ DE ANTA M.T.

Use of microscopic morphology in smears prepared from radiometric cultures for presumptive identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium xenopi.*

Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1998 ; 17 : 493-500.

22. GROSSET J., BOISVERT H., TRUFFOT-PERNOT C.

Mycobactéries.

In Bactériologie Médicale, 1990

LE MINOR L., VERON M.

Flammarion Paris, pp. 965-1017.

23. GROSSET J., TRUFFOT-PERNOT C., BOISVERT H., LALANDE V.

Qu'est-ce que les mycobactéries atypiques?

Méd. Mal. Inf., 1991 ; 21 : 7-15.

24. GROSSET J., JI B., TRUFFOT-PERNOT C., LOUNIS N.

Mycobactéries, place de l'amikacine : de nouveaux schémas thérapeutiques.

La lettre de l'infectiologue - Numéro hors série, juin 1995 : 19-21.

25. HALLEY S., GAILLARD J.L.

Mycobactéries atypiques.

Feuillets de biologie, 1998 ; 39 (221) : 31-36.

26. HAUDUROY P.

Le problème des mycobactéries anormales.

Acta Phtisiol., 1960 ; 45 : 9.

27. HORSBURGH C.R., SELIK R.M.

The epidemiology of disseminated nontuberculous mycobacterial infection in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)

Am. Rev. Respir. Dis., 1989 ; 139 : 4-7.

28. JIVA T.M., JACOBY H.M., WEYMOUTH L.A., KAMINSKI D.A., PORTMORE A.C.

Mycobacterium xenopi : innocent bystander or emerging pathogen?

Clin. Infect. Dis., 1997 ; 24 : 226-232.

29. KOEMOTH P.P., FRASELLE R., CORREA DE BRITO J.M., BROCK M.

Presumptive identification of *Mycobacterium xenopi* with the radiometric Bactec system.

Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1991 ; 10 : 694-696.

30. LAGRANGE P.

Les mycobactéries opportunistes. Réactions de l'hôte.

Méd. Mal. Inf., 1991 ; 21 : 35-45.

31. LARSSON L., JIMENEZ J., VALERO-GUILLEN P., MARTIN-LUENGO F., KUBIN M.

Establishment of 2-docosanol as a cellular marker compound in the identification of *Mycobacterium xenopi.*

J. Clin. Microbiol., 1989 ; 27 : 2388-2390.

32. LUQUIN M., LOPEZ F., AUSINA V.

Capillary gas chromatographic analysis of mycolic acid cleavage products, cellular fatty acids and alcohols of *Mycobacterium xenopi.*

J. Clin. Microbiol., 1989 ; 27 : 1403-1406.

33. MC SWIGGAN D.A., COLLINS C.H.

The isolation of *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium xenopi* from water systems.

Tubercle, 1974 ; 55 : 291-297.

34. MARTIN C., DENIS F.

Une bactérie d'actualité : *Mycobacterium xenopi.*

Spectra Biologie, 1998 ; 17 (94) : 25-31.

35. MAUGEIN J., FOURCHE J., MORMEDE M., PELLEGRIN J.L.

Sensibilité *in vitro* de *Mycobacterium avium* et *Mycobacterium xenopi* à l'érythromycine, roxithromycine et doxycycline.

Path. Biol., 1989 ; 37 : 565-567.

36. MAY T., BREL F., BEUSCART C., VINCENT V., PERRONNE C., DOCO-LECOMPTE T., SAINT-MARC T., DAUTZENBERG B., GROSSET J., AND THE ANRS TRIAL 033 CURAVIUM GROUP.

Comparison of combination therapy regimens for treatment of human immunodeficiency virus-infected patients with disseminated bacteremia due to *Mycobacterium avium.*

Clin. Infect. Dis., 1997 ; 25 : 621-629.

37. MILLER W.C., PERKINS M.D., RICHARDSON W.J., SEXTON D.J.

Pott's disease caused by *Mycobacterium xenopi* : case report and revue.

Clin. Infect. Dis., 1994 ; 19 : 1024-1028.

38. NOLTE F.S., METCHOCK B.

Mycobacterium.

In Manual of Clinical Microbiology, 6ème édition, 1995.

MURRAY P.R., BARON E.J., PFALLER M.A., TENOVER F.C., YOLKEN R.H.

ASM Press Washington D.C., pp.400-414.

39. NOUHOUAYI A., BERGOGNE-BEREZIN E.

Etude de la sensibilité des mycobactéries aux antibiotiques. Techniques et indications.

La lettre de l'infectiologue, 1996 ; 11 (7) : 163-166.

40. O'BRIEN R.J., GEITER L.J., SNIDER D.E.

The epidemiology of nontuberculous mycobacterial diseases in the United States.

Am. Rev. Respir. Dis., 1987 ; 135 : 1007-1014.

41. OLLAGNIER E., FRESARD A., GUGLIELMINOTTI C., CARRICAJO A., MOSNIER J.F., ALEXANDRE C., LUCHT F.

Infection ostéo-articulaire à *Mycobacterium xenopi.*

La presse médicale, 1998 ; 27 (17) : 800-803.

42. PAPILLON F., CHRETIEN J.

Mycobactérioses pulmonaires non tuberculeuses en dehors du SIDA.

Méd. Mal. Infect., 1991 ; 21 : 46-52.

43. PICARDEAU M., VINCENT V.

Development of a species-specific probe for *Mycobacterium xenopi.*

Res. Microbiol., 1995 ; 146 : 237-243.

44. POVEDA J.-D.

Le point sur les méthodes de détection et d'identification des mycobactéries dérivées de la biologie moléculaire.

Revue française des laboratoires, 1995 ; 273 : 63-69.

45. PRICE A.B., OXEN R., SOWTER G., WEINBERG J., SMITH H.

Disseminated *Mycobacterium xenopi* infection.

Lancet, 1985 ; 2 : 383.

46. PRIGOGINE T., STOFFELS G., FAUVILLE-DUFAUX M., TROLIN C., RAFTOPOULOS C.

Primary psoas muscle abcess due to *Mycobacterium xenopi.*

Clin. Infect. Dis., 1998 ; 26 : 221-222.

47. RASKINE L., LELEU S., SANSON-LE PORS M.J.

Mycobacterium xenopi. Aspects cliniques et bactériologiques.

Feuillets de biologie, 1997 ; 38 (219) : 33-42.

48. RASTOGI N., GOTH K.S., DAVID H.L.

Activity of five fluoroquinolones against *Mycobacterium avium-intracellulare* complex and *Mycobacterium xenopi.*

Ann. Inst. Past. Microbiol., 1988 ; 139 : 233-237.

49. RASTOGI N.

Sensibilité extra-cellulaire et intra-cellulaire des mycobactéries aux antibiotiques.

In Manuel de Bactériologie Clinique, 2ème édition, 1994

FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., BOLLET C.

Elsevier Paris, pp. 947-975.

50. ROUSSEAU J.M., BRINQUIN L., DIRAISON Y., BONSIGNOUR J.P.

Post-operative acute respiratory failure associated with *Mycobacterium xenopi.*

Intensive Care Med., 1993 ; 19 : 361-364.

51. RUNYON E.H.

Anonymous mycobacteria in pulmonary disease.

Med. Clin. North. Am., 1959 ; 43 : 273-290.

52. SCHWABACHER H.

A strain of *Mycobacterium* isolated from skin lesions of a cold-blooded animal, *Xenopus laevis*, and its relation to atypical acid-fast bacilli occurring in man.

J. Hygiene, 1959 ; 57 : 57-67.

53. SIMOR A.E., SALIT I.E., VELLEND H.

The role of *Mycobacterium xenopi* in human disease.

Am. Rev. Respir. Dis., 1984 ; 129 : 435-438.

54. TELGT D.S.C., VAN DEN HOOGEN F.H.J., MEIS J.F.G.M., LEMMENS J.A.M., VAN DE PUTTE L.B.A.

Arthritis and spondylodiscitis caused by *Mycobacterium xenopi* in a patient with systemic lupus erythamatosus.

Br. J. Rheumatol., 1997 ; 36 : 1025-1026.

55. TELLES M.A.S., YATES M.D.

Single and double drug susceptibility testing of *Mycobacterium avium* complex and mycobacteria other than the tubercle (MOTT) bacilli by a microdilution broth minimum inhibitory concentration (MIC) method.

Tubercle and Lung Disease, 1994 ; 75 : 286-290.

56. TORTOLI E., PIERSIMONI C., BACOSI D., BARTOLONI A., BETTI F., BONO L., BURRINI C., DE SIO G., LACCHINI C., MANTELLA A., ORSI P.G., PENATI V., SIMONETTI M.T., BOTTGER E.C.

Isolation of the newly describded species *Mycobacterium celatum* from AIDS patients.

J. Clin. Microbiol., 1995 ; 33 : 137-140.

57. TRUFFOT-PERNOT C., GIROIR A.M., MAURY L., GROSSET J.

Etude des concentrations minima inhibitrices de rifabutine (Ansamycine LM427) pour *Mycobacterium xenopi* et *Mycobacterium avium-intracellulare.*

Rev. Mal. Resp., 1988 ; 5 : 401-406.

58. TRUFFOT-PERNOT C., MAURY L., GROSSET J.

Le diagnostic microbiologique des infections à mycobactéries atypiques chez les malades atteints de SIDA : rapport coût-efficacité.

Méd. Mal. Infect., 1991 ; 21 : 99-104.

59. TRUFFOT-PERNOT C., JI B., GROSSET J.

Activities of pefloxacin and ofloxacin against mycobacteria : *in vitro* and mouse experiments.

Tubercle, 1991 ; 72 : 57-64.

60. VINCENT LEVY-FREBAULT V.

Ecologie des mycobactéries et mode de contamination humaine.

Méd. Mal. Infect., 1991 ; 21 : 16-25.

61. VINCENT LEVY-FREBAULT V.

Méthodes rapides de détection et de diagnostic des mycobactéries : actualités et perspectives.

Méd. Mal. Infect., 1992 ; 22 : 391-406.

62. VINCENT V.

Les mycobactéries : bacilles de la tuberculose.

In Manuel de Bactériologie Clinique, 2ème édition, 1994

FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., BOLLET C.

Elsevier Paris, pp.899-922.

63. VINCENT V.

Mycobactéries autres que les mycobactéries de la tuberculose (MAMT).

In Manuel de Bactériologie Clinique, 2ème édition, 1994

FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., BOLLET C.

Elsevier Paris, pp. 923-937.

64. VINCENT V.

Taxonomie des mycobactéries.

Revue française des laboratoires, 1995 ; 273 : 27-31.

65. WATT B.

In-vitro sensitivities and treatment of less common mycobacteria.

J. Antimicrob. Chemother., 1997 ; 39 : 567-574.

66. WAYNE L.G., KUBICA G.P.

Genus *Mycobacterium.*

In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1986.

SNEATH P.H.A., MAIR N.S., SHARPE M.E., HOLT J.G.

Williams and Wilkins Co, Baltimore, pp. 1436-1457.

67. WEINBERG J.R., GERTNER D., DOOTSON G., CHAMBERS S.T.

Disseminated *Mycobacterium xenopi* infection.

Lancet, 1985 ; 1 : 1033-1034.

68. WOLINSKI E., RYNEARSON T.K.

Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains.

Am. Rev. Respir. Dis., 1968 ; 97 : 1032-1037.

69. WOLINSKI E.

Non tuberculous mycobacteria and associated diseases.

Am. Rev. Respir. Dis., 1979 ; 119 : 107-159.

70. WOLINSKI E.

Mycobacterial diseases other than tuberculosis.

Clin. Infect. Dis., 1992 ; 15 : 1-12.

71. WOLINSKI E.

Is *Mycobacterium xenopi* an emerging pathogen?

Clin. Infect. Dis., 1997 ; 24 : 233-234.

72. WOODS G.L., WASHINGTON J.A.

Mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis* : review of microbiologic and clinical aspects.

Rev. Infect. Dis., 1987 ; 9 : 275-294.

73. YOUNG L.S., BERLIN O.G.W.

Activity of ciprofloxacin and other fluorinated quinolones against mycobacteria.

The American Journal of Medicine, 1987 ; 82 : 23-26.

74. YUEN K., FAM A.G., SIMOR A.

Mycobacterium xenopi arthritis.

J. Rheum., 1998 ; 25 : 1016-1018.

75. ZAMBARDI G.

Détection et identification des mycobactéries par amplification génique.

In Manuel de Bactériologie Clinique, 2ème édition, 1994

FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., BOLLET C.

Elsevier Paris, pp. 939-946.

76. ZIZA J.M.

Leçons de médecine : à propos d'une épidémie moderne de spondylodiscites à *Mycobacterium xenopi.*

Rev. Méd. Interne, 1997 ; 18 : 845-848.

77. ZURAWSKI C.A., CAGE G.D., RIMLAND D., BLUMBERG H.M.

Pneumonia and bacteremia due to *Mycobacterium celatum* masquerading as *Mycobacterium xenopi* in patients with AIDS : an underdiagnosed problem?

Clin. Infect. Dis., 1997 ; 24 : 140-143.

BIBLIOTHEQUE PHARMACIE ODONTOLOGIE NANCY

FACULTE DE PHARMACIE

UNIVERSITE HENRI POINCARE
NANCY I

DEMANDE D'IMPRIMATUR

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE Présenté par : Jean-Noël DAUENDORFFER Sujet : *Mycobacterium xenopi* : revue de la littérature et étude de sa sensibilité aux antibiotiques. Jury : Mme J. SCHWARTZBROD Mlle M. DAILLOUX Mme M. WEBER M. J LOUBINOUX	Vu, Nancy, le Le Président de thèse, **J. SCHWARTZBROD**
Vu et approuvé, Nancy, le 15/4/99 P/ Le Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré - Nancy I G. CATAU UNIVERSITE de NANCY - FACULTE de PHARMACIE **C. VIGNERON**	Vu, Nancy, le 21 avril 1999 n° 457 Le Président de l'Université Henri Poincaré Nancy I UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY I - LE PRÉSIDENT **C. BURLET**

N° d'identification : PH Nancy 99 n° 34

Mycobacterium xenopi : revue de la littérature et étude de la sensibilité aux antibiotiques.

Soutenue le **21 mai 1999**

par **Monsieur Jean-Noël DAUENDORFFER**

RESUME

Mycobacterium xenopi (*M. xenopi*) est une mycobactérie atypique scotochromogène, à croissance lente, principalement responsable d'atteintes pulmonaires. L'inoculation directe du germe consécutive à un traumatisme ou à l'emploi de matériel contaminé semble jouer un rôle croissant dans la transmission. Le traitement des infections à *M. xenopi* est long, difficile et peu codifié étant donné le faible nombre de données concernant la sensibilité du germe aux antibiotiques. Aussi était-il intéressant d'évaluer, pour 14 souches, la sensibilité *in vitro* à l'amikacine, la clarithromycine, l'éthambutol, l'ofloxacine et la rifampicine, par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en milieu gélosé. Les CMI de l'amikacine, de la clarithromycine et de l'ofloxacine sont basses, ce qui justifie leur utilisation dans le traitement de première intention des infections à *M. xenopi*. Les CMI de l'éthambutol sont supérieures aux concentrations sériques de l'antibiotique. Son utilisation thérapeutique repose cependant sur son efficacité *in vivo* en dépit de la résistance du germe *in vitro*. Enfin, la sensibilité des souches à la rifampicine est variable. Le faible nombre de souches étudiées n'autorise cependant pas à écarter la rifampicine du traitement de première intention des infections à *M. xenopi*.

MOTS CLES

Mycobacterium xenopi, antibiotiques.

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
M. DAILLOUX	**Laboratoire de bactériologie**	Expérimentale ☒ Bibliographique ☐ Thème 5

Thèmes

1 - Sciences Fondamentales
2 - Hygiène / Environnement
3 - Médicament
4 - Alimentation - Nutrition
5 - Biologie
6 - Pratique professionnelle