



Commentaire sur les essais interlaboratoires B39, B40 et B41 – détection de mycobactéries 2024-3 et 2024-4

Essai interlaboratoire B39 – microscopie

Quatre fois par an, deux lames fixées à chaud sont envoyées pour la détection des bâtonnets acido-résistants. Les lames peuvent être colorées avec la coloration de Ziehl-Neelsen, une coloration fluorescente (par exemple l'auramine) ou une autre coloration pour bâtonnets acido-résistants. Les préparations peuvent d'abord être sélectionnées à l'aide d'une coloration fluorescente, puis recolorées selon la méthode Ziehl-Neelsen.

La microscopie permet une détection rapide mais peu sensible des mycobactéries dans le matériel du/de la patient·e. Elle ne permet pas de différencier *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) des mycobactéries non tuberculeuses (MNT). La détection microscopique des bâtonnets acido-résistants joue désormais un rôle majeur pour le contrôle thérapeutique (MTB et MNT) et dans le cadre des investigations environnementales sur la tuberculose.

Avec l'essai interlaboratoire 2024-3, un échantillon négatif (A) et un échantillon positif (B), et avec l'essai interlaboratoire 2024-4 deux échantillons positifs ont été envoyés. Les échantillons positifs contenaient des mycobactéries non tuberculeuses. L'évaluation des préparations n'a généralement pas posé de difficultés. Les échantillons ont été évalués correctement par la majorité des 27 participant·e·s (99 %), à l'exception d'un échantillon faussement négatif 2024-3 B39-B.

Essai interlaboratoire B40 – culture, identification et tests de résistance MTB

L'essai interlaboratoire B40 comprend du matériel respiratoire artificiel pour la culture de mycobactéries avec identification ultérieure. Si le complexe *M. tuberculosis* est détecté par culture, un test de résistance phénotypique aux antibiotiques de première intention, l'isoniazide, la rifampicine, l'éthambutol et le pyrazinamide, peut être réalisé. Quatre échantillons sont envoyés deux fois par an.

Échantillon 2024-3 B40-A	<i>Mycobacterium bovis</i> , naturellement résistant au pyrazinamide (<i>pncA</i> , H57D)
Échantillon 2024-3 B40-B	<i>M. tuberculosis</i> , pan-sensible
Échantillon 2024-4 B40-A	<i>M. tuberculosis</i> , monorésistance à l'isoniazide, mutation du gène <i>katG</i> (S315T), résistance élevée à l'isoniazide
Échantillon 2024-4 B40-B	Mycobactéries non détectables par culture

Test du pyrazinamide

La résistance au pyrazinamide est très rare, à l'exception de *M. bovis*, *M. bovis* BCG et *M. Tuberculosis* multirésistant (MDR). Nous recommandons de confirmer la détection phénotypique de la résistance au pyrazinamide à l'aide de méthodes moléculaires et/ou du test de la pyrazinamidase. Notamment parce que le kit de test commercial de pyrazinamide de Becton Dickinson a montré des problèmes de production l'année dernière, ce qui a entraîné de faux résultats de résistance.

Test de la rifampicine

En février 2021, l'OMS a abaissé la concentration critique permettant de distinguer les isolats du complexe *M. tuberculosis* sensibles à la rifampicine de ceux résistants à la rifampicine à l'aide du test de résistance MGIT de 1,0 mg/L à 0,5 mg/L afin de détecter une résistance de faible niveau. [Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). Geneva: World Health Organization; 2021.]. Remarque : Le système de test commercial de Becton Dickinson (kit BD BACTEC™ MGIT™ SIRE) continue d'utiliser la concentration de rifampicine de 1,0 mg/L.

Essai interlaboratoire B41 – identification MNT

L'essai interlaboratoire B41 permet de vérifier l'identification des mycobactéries non tuberculeuses (MNT). Quatre cultures MNT sont envoyées deux fois par an. Les MNT diffèrent par leur pathogénicité et leur résistance. L'identification des MNT au niveau de l'espèce est par conséquent essentielle.

Taxonomie mycobactérienne : Le genre *Mycobacterium*, qui comprend plus de 200 espèces, a été récemment divisé en cinq genres (Gupta, 2018, Front Microbiol). D'un point de vue taxonomique, cette nouvelle classification peut être justifiée, mais elle peut entraîner des confusions en microbiologie clinique et par là même constituer un danger pour les patient·e·s. Conformément aux règles taxonomiques, la nouvelle et l'ancienne nomenclature peuvent être utilisées côte à côte. Actuellement, il est donc recommandé d'utiliser la taxonomie conventionnelle pour la microbiologie clinique (Tortoli, 2019, Eur Resp J).

Échantillon 2024-3 B41-A *Mycobacterium chelonae*

Échantillon 2024-3 B41-B *Mycobacterium xenopi*

Échantillon 2024-4 B41-A *Mycobacterium chimaera* resp. *M. intracellulare* subsp. *chimaera*

Échantillon 2024-4 B41-B *Mycobacterium marinum*

L'identification des MNT pose généralement peu de difficultés.

Mycobacterium chimaera

Le complexe *M. avium* (MAC) appartient aux mycobactéries à croissance lente et comprend notamment les espèces *M. avium*, *M. intracellulare* et *M. chimaera* (également *M. intracellulare* subsp. *chimaera*). Les MAC font partie des agents pathogènes les plus courants des infections mycobactériennes non tuberculeuses. Les poumons sont le site d'infection le plus fréquent. Les infections à MAC disséminées surviennent chez les patient·e·s immunodéprimé·e·s (p. ex. les patient·e·s atteint·e·s du VIH).

Le séquençage de l'ARNr 16S permet de distinguer *M. avium*, *M. intracellulare* et *M. chimaera* les uns des autres. Une identification est également possible à l'aide d'un test de sonde linéaire (Line Probe Assay). Sur la base de l'épidémie d'infections à *M. chimaera* décrites précédemment chez des patient·e·s après une chirurgie cardiaque, nous recommandons de faire la distinction entre *M. intracellulare* stricto sensu et *M. chimaera*.

Mycobacterium chelonae

Le complexe *M. chelonae/abscessus* (MABC) appartient aux mycobactéries à croissance rapide et comprend l'espèce *M. abscessus* subsp. *abscessus*, *M. abscessus* subsp. *massiliense*, *M. abscessus* subsp. *boletii* et *M. chelonae*. Les MABC peuvent provoquer des maladies pulmonaires chroniques chez les patient·e·s présentant des lésions pulmonaires (bronchiectasie, mucoviscidose) et sont également connus pour provoquer des infections de la peau et des tissus mous après un traumatisme ou une intervention chirurgicale.

Les espèces de MABC ne peuvent pas être distinguées au seul moyen du séquençage de l'ARNr 16S. L'identification est réalisée par séquençage du gène *rpoB* ainsi que par séquençage du gène *erm*(41) ou par des tests de sonde linéaire.

L'échantillon 2024-3 B41-A contenait *M. chelonae*. Cette mycobactérie se caractérise par une température de croissance optimale de 28 à 30 °C. *M. chelonae* est généralement sensible aux macrolides. La tobramycine est considérée comme l'aminoglycoside de choix pour le traitement de *M. chelonae*, contrairement à *M. abscessus* contre laquelle l'amikacine est utilisée. L'amikacine est considérée comme inefficace contre *M. Chelonae*. Nous recommandons par conséquent de différencier *M. chelonae* et *M. abscessus*.

Autres références bibliographiques sur les mycobactéries non tuberculeuses

Simmner PJ *et al.* 2015. *Mycobacterium*: Clinical and Laboratory Characteristics of Slowly Growing Mycobacteria. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, pp 570-594

Brown-Elliott BA, Wallace RJ. 2015. *Mycobacterium*: Clinical and Laboratory Characteristics of Rapidly Growing Mycobacteria. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, pp 595-612

Daley CL *et al.* 2020, Treatment of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease: An Official ATS/ERS/ESCMID/IDSA Clinical Practice Guideline. Clin Infect Dis. 71(4):904-913

Tortoli *et al.* 2016. Emended description of *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* and *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* and designation of *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 66: 4471-4479

Merci d'avoir participé aux essais interlaboratoires
Meilleures salutations



Dr sc. nat. Bettina Schulthess, FAMH Microbiologie
Codirectrice du Centre national des mycobactéries (NZM, Nationales Zentrum für Mykobakterien)
Institut de microbiologie médicale
Université de Zurich
Gloriastrasse 28/30
8006 Zurich