



*Université Lille 2
Droit et Santé*

UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2014

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Facteurs associés à la colonisation par mycobactéries non
tuberculeuses dans la mucoviscidose**

Présentée et soutenue publiquement le 19 novembre à 18h
au Pôle Formation

Par Justine Cordier

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Benoît Wallaert

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Raymond Glantenet

Madame le Professeur Karine Faure

Madame le Docteur Anne Prevotat

Directeur de Thèse :

Madame le Docteur Anne Prevotat

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Liste des abréviations

Centre de Ressources et de Compétences pour la mucoviscidose	CRCM
Mycobactérie non tuberculeuse	MNT
<i>Mycobacterium abscessus</i>	MAB
<i>Mycobacterium avium complex</i>	MAC
<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline	SASM
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline	SARM
Epreuves fonctionnelles respiratoires	EFR
Volume expiré maximal par seconde	VEMS
Capacité vitale forcée	CVF
Examen cytobactériologique des crachats	ECBC
Bacilles acido-alcoolo-résistants	BAAR
Indice de masse corporelle	IMC
Insuffisance pancréatique exocrine	IPE
Aspergillose broncho-pulmonaire allergique	ABPA
Inhibiteur de la pompe à protons	IPP

Table des matières

RÉSUMÉ.....	1
I.Introduction.....	2
II.Matériels et méthodes.....	6
1.Données cliniques et para cliniques.....	7
2.Identification de la MNT.....	7
3.Mise en route d'un traitement	8
4.Analyse statistique.....	8
III.Résultats.....	9
1.Etude cas-témoins.....	9
2.Description des cas.....	11
IV.Discussion.....	15
V.Conclusion.....	23
VI.Références bibliographiques.....	24

RÉSUMÉ

Contexte Les patients atteints de mucoviscidose représentent un groupe à risque de colonisation et d'infection par mycobactéries non tuberculeuses (MNT). Le diagnostic et la prise en charge des colonisations à MNT sont des problèmes émergents, d'autant qu'il n'existe pas de consensus.

Méthode Nous avons réalisé une étude rétrospective cas-témoins, multicentrique, dont l'objectif était d'identifier les facteurs associés à la colonisation par MNT. 50 cas et 187 témoins étaient inclus.

Résultats Les MNT les plus fréquemment retrouvées chez les cas étaient *Mycobacterium abscessus* (56%) et *mycobacterium avium complex* (34%). Les patients colonisés (cas) étaient plus dénutris que les témoins ($p=0,0004$). L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique était associée à la colonisation par MNT ($p=0,006$), de même que l'administration de plus de quatre cures antibiotiques par voie intra veineuse dans l'année ($p=0,001$). Il n'y avait pas de différence en terme de colonisations bactériennes par *Staphylococcus aureus* ou *Pseudomonas aeruginosa*. Les traitements inhalés et la prise d'azithromycine au long cours n'étaient pas associés à la colonisation par MNT. Nous avons ensuite comparé les patients infectés à MNT selon les critères ATS et donc traités, et les patients colonisés ne répondant pas à ces critères. La présence d'*Aspergillus fumigatus* était associée à l'infection ($p= 0,03$). On observait un déclin du VEMS plus important chez les patients infectés que chez les patients colonisés ($p<0,02$).

Conclusion Les patients colonisés à MNT étaient plus dénutris, ce qui souligne l'importance de la prise en charge nutritionnelle chez ces patients. Ils présentaient plus fréquemment une ABPA et étaient plus antibio-dépendants. La prise d'azithromycine au long cours n'était pas un facteur associé à l'émergence d'une MNT. Lors de l'infection à MNT, la dégradation du VEMS était plus importante que chez les patients colonisés.

I. Introduction

La mucoviscidose est la maladie génétique à transmission autosomique récessive la plus fréquente dans la population caucasienne, touchant environ une naissance sur 2500. La physiopathologie de cette maladie repose sur l'atteinte d'un gène codant pour une glycoprotéine, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), impliquée dans le transport épithélial hydrique et ionique. Au niveau bronchique, la dysfonction de cette protéine entraîne une déshydratation du mucus, une viscosité des sécrétions, une inflammation chronique. L'évolution est émaillée de colonisations et d'infections respiratoires récidivantes entraînant une destruction pulmonaire et une insuffisance respiratoire qui conditionnent le pronostic. Les bactéries responsables de colonisation sont initialement *Staphylococcus aureus* et *Haemophilus influenzae*, puis *Pseudomonas aeruginosa* (1)(2)(3) D'autres pathogènes peuvent apparaître plus tardivement, comme *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aspergillus fumigatus* et les mycobactéries non tuberculeuses (MNT)(4)(5)(6)(7).

Ces MNT sont des organismes ubiquitaires et d'origine environnementale (eau, sol...)(5). Aucune transmission interhumaine ni acquisition nosocomiale n'est décrite (5)(8)(9). Les deux souches les plus fréquemment identifiées chez les patients atteints de mucoviscidose appartiennent au groupe *Mycobacterium avium complex* (MAC) et au groupe *Mycobacterium abscessus complex* (MAB) (8)(10). Depuis les années 1990, on observe une émergence des MNT, avec augmentation de leur prévalence. Il est difficile de savoir si cette prévalence augmente réellement, ou si elle est le reflet d'une recherche plus fréquente et plus performante des MNT. L'augmentation de l'espérance de vie des patients

atteints de mucoviscidose pourrait également être un facteur impliqué dans l'augmentation de la prévalence des MNT. D'après le Registre National de la mucoviscidose, la proportion de patients colonisés à MNT en France était de 2,2% en 2012, contre 1,3% en 2006 et 0,5% en 1999. De nombreuses études se sont intéressées à la prévalence des infections à MNT (11). Celle-ci varie suivant le pays et suivant l'âge (12). La première étude multicentrique de prévalence menée aux États-Unis et publiée en 2003 retrouvait une prévalence de MNT de 13% dont une majorité de MAC (8). Une étude menée en France en 2009 retrouvait une prévalence de MNT de 6,6% (prévalence variable selon les régions) avec une prédominance globale de MAB (10). Le pic de prévalence des MAB était retrouvé à un âge plus jeune que celui des MAC (10). La gravité de l'infection à MNT est variable selon le pouvoir pathogène de la souche ainsi que selon des facteurs propres à l'hôte (12).

L'American Thoracic Society (ATS) a proposé en 2007 des critères permettant d'établir un diagnostic d'infection à MNT en dehors du contexte de mucoviscidose:

- critères cliniques : toux chronique productive, altération de l'état général, hyperthermie, majoration de la dyspnée...
- critères radiologiques : apparition de bronchectasies, nodules, cavités
- et critères microbiologiques : deux expectorations différentes avec culture positive, ou une culture positive sur aspiration bronchique ou lavage broncho-alvéolaire, ou mise en évidence d'une inflammation granulomateuse à la biopsie pulmonaire associée à une culture positive (quelque soit le type de prélèvement)(5).

Ces critères peuvent être difficilement utilisables chez le patient atteint de mucoviscidose, qui présente certains de ces signes radio-cliniques

indépendamment de toute infection à MNT. Une aggravation de la valeur du Volume Expiré Maximal par Seconde (VEMS) ou des lésions radiologiques préexistantes, une hyperthermie prolongée et inexplicquée, un amaigrissement anormal, des expectorations plus abondantes malgré un traitement antibiotique ou anti-aspergillaire adapté peuvent indiquer que la MNT est l'agent responsable de ces symptômes (13)(14).

La recherche et l'identification de la MNT doivent se faire de préférence dans un laboratoire de référence. La recherche est généralement effectuée à partir de simples expectorations. Un examen direct est réalisé, suivi d'une méthode de décontamination du *Pseudomonas aeruginosa* utilisant l'acide oxalique. Il faut ensuite déterminer s'il s'agit d'une MNT à croissance rapide (moins de 7 jours, tel que *M.abscessus*) ou à croissance lente tel que *M.avium complex*, et établir le génotype (5)(11). Il n'existe aucun consensus concernant la fréquence de dépistage des MNT, mais une surveillance annuelle est habituellement admise (11).

Pour la prise en charge thérapeutique, l'ATS recommande de débiter un traitement chez les patients répondant aux critères d'infection. Chez les autres patients, une surveillance clinique et microbiologique régulière peuvent être proposée. Pour le traitement il est recommandé d'associer trois molécules ou plus afin de prévenir le développement de résistances, et de surveiller les concentrations plasmatiques d'antibiotiques. Il existe une faible corrélation entre les sensibilités in vitro et l'efficacité clinique, à l'exception des macrolides (5)(11). Le traitement doit être prolongé, l'ATS recommande de poursuivre le traitement jusqu'à un an après la négativation des cultures (5).

L'absence d'éradication des mycobactéries atypiques chez le patient atteint de mucoviscidose constituait habituellement une contre indication relative ou

absolue à la transplantation pulmonaire, particulièrement dans le cas d'une infection à *Mycobacterium abscessus*. Cette donnée est peu à peu remise en question par de récentes études, qui retrouvent des complications post opératoires mais pas de décès liés à l'infection par *M.abscessus* (15)(16)(17).

Les objectifs de ce travail étaient d'une part d'identifier par une étude cas-témoins les facteurs associés à la colonisation par MNT, en comparant les caractéristiques des patients porteurs de MNT et de patients témoins (atteints de mucoviscidose mais sans MNT retrouvée). D'autre part, il s'agissait d'identifier les facteurs associés à l'infection par MNT, définie selon les critères ATS.

II. Matériels et méthodes

Ce travail fait suite à celui mené en 2012, à l'initiative du Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose, par le Dr Laura Coupet. Il s'agissait d'une étude rétrospective, multicentrique. Les données étaient obtenues grâce au registre national de la mucoviscidose (Muco-registre).

Pour le recueil des cas, (patients infectés ou colonisés à MNT), la sélection des CRCM s'était basée sur la présence d'au moins quatre patients d'un même CRCM ayant au moins deux cultures d'expectoration (ECBC) positives à MNT entre 2004 et 2009 et acceptant de participer à l'étude. Les CRCM de Lille, Rouen, Paris, Suresnes, Montpellier, Toulouse, Bordeaux et Roscoff avaient été contactés. Le recueil des données des cas avait été effectué un an avant la mise en évidence de la mycobactérie, puis lors de l'identification de la MNT, et enfin deux ans après, afin de suivre l'évolution clinique des patients.

Les centres de microbiologie référents de chaque Centre Hospitalier avaient été joints afin d'obtenir les dates, les caractéristiques des prélèvements et les antibiogrammes des souches identifiées. Avaient été exclus, les patients dont les ECBC étaient postérieurs à l'année 2009 et les sujets pour lesquels un seul ECBC était retrouvé positif, donc suspect d'être une contamination. 50 cas étaient inclus.

Le recueil des patients témoins (sans MNT retrouvée) était réalisé de janvier à juin 2014, au sein des CRCM adulte et pédiatrique du CHRU de Lille, et au sein du CRCM pédiatrique de l'hôpital Necker à Paris. Le recueil des données d'au moins trois témoins par cas était envisagé, avec un appariement portant sur l'âge et le sexe. Les données des témoins étaient recueillies au même âge que l'âge du cas correspondant lors de l'identification de la MNT. Au total, 187 patients témoins étaient

inclus.

1. Données cliniques et para cliniques

Au moment de l'identification de la mycobactérie chez les cas, étaient recueillis :

- des données d'anamnèse : sexe, âge au diagnostic de la colonisation à MNT, génotype,
- des données cliniques (poids, indice de masse corporelle (IMC), présence ou non d'une insuffisance pancréatique exocrine (IPE), d'un diabète, d'un reflux gastro-oesophagien traité),
- des données fonctionnelles (saturation en oxygène, spirométrie : VEMS et CVF en pourcentage de la théorique)
- les traitements administrés au long cours : azithromycine, nombre de cures antibiotiques intra veineuses par an, corticothérapie per os ou inhalée, traitement par inhibiteur de la pompe à protons (IPP),
- des données microbiologiques : colonisation à *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, présence d'*Aspergillus fumigatus* dans l'ECBC, présence d'une aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) (les patients sous traitement antifongique par voriconazole ou itraconazole étaient considérés comme ayant une ABPA).

2. Identification de la MNT

Il s'agissait de définir les caractéristiques des mycobactéries identifiées :

- la présence de bacilles acido-alcool-résistants (BAAR) à l'examen direct
- le type de MNT : *Mycobacterium abscessus* (MAB), *Mycobacterium avium complex* (MAC) ou autre
- les antibiogrammes

3. Mise en route d'un traitement

Deux groupes de patients se distinguaient à la mise en évidence de la MNT : ceux dont le tableau clinique, radiologique et microbiologique correspondaient aux critères d'infection respiratoire de l'ATS et pour lesquels un traitement était débuté (patients infectés), et ceux qui ne répondaient pas aux critères ATS d'infection (patients colonisés). Un suivi de l'évolution était réalisé chez ces deux groupes, avec recueil du poids et du VEMS deux ans après l'identification de la MNT.

4. Analyse statistique

Les variables qualitatives étaient décrites par les effectifs et les pourcentages ; les variables quantitatives par la moyenne, l'écart-type, la médiane et les extrêmes.

La normalité était vérifiée par les tests de normalité de Shapiro-Wilk.

Les comparaisons intergroupes étaient réalisées par test du Khi-deux (ou par test de Fisher exact si effectif théorique trop faible) ou par test de Student ou Mann-Whitney.

Le niveau de signification était fixé à $p < 0,05$.

III. Résultats

1. Etude cas-témoins

Au sein des 8 CRCM, 50 cas étaient inclus, comprenant 23 hommes et 27 femmes, soit un sex-ratio H/F de 0,8. L'âge médian était de 18 ans et demi. On notait 20 enfants d'une moyenne d'âge de 14 ans et 30 adultes d'une moyenne d'âge de 30 ans.

Parmi les 187 témoins, on incluait 94 femmes et 93 hommes, soit un sex-ratio H/F de 0,99. L'âge médian était de 21 ans. La population des témoins comptait 75 enfants d'une moyenne d'âge de 14 ans et demi et 112 adultes d'une moyenne d'âge de 24 ans.

38% des cas étaient homozygotes pour la mutation $\Delta F508$, contre 44% des témoins. Les données anthropométriques retrouvaient un poids médian à 50,5 kg pour les cas et à 52 kg pour les témoins ($p=0,0004$). L'IMC (indice de masse corporelle) des cas était à $18,5 \text{ kg/m}^2$, contre $19,5 \text{ kg/m}^2$ chez les témoins ($p=0,007$).

Sur le plan fonctionnel, le VEMS médian était à 70% de la théorique pour les cas et à 78% de la théorique pour les témoins ($p=0,93$), la CVF était à 85% de la théorique chez les cas et à 91% de la théorique chez les témoins ($p=0,80$).

Parmi les éléments de morbidité, une majorité de patients présentait une insuffisance pancréatique exocrine (84% des cas et 79% des témoins ($p=0,55$)), un diabète était connu chez 22% des cas et 12% des témoins ($p=0,07$). (*Tableau1*)

Tableau1. Description de la population générale

	Cas n=50	Témoins n=187	Valeur de p
Sexe (n,%)			
Homme	23 (46)	93 (50)	
Femme	27 (54)	94 (50)	
Sex ratio H/F	0,8	0,99	0,8
Anthropométrie / EFR			
Age	18,5 (15-29)	21 (17-25)	0,35
Poids	50,5 (39-60)	52 (46-60)	0,0004
IMC	18 (16-22)	19,5 (18-22)	0,007
SaO2	97 (96-98)	97 (96-98)	0,15
VEMS	70 (56-87)	78 (50-99)	0,93
CVF	85 (70,5-96)	91 (69-102)	0,80
Homozygotie Δ F508	19 (38)	82 (44)	0,11
Co morbidités			
IPE	42 (84)	147 (79)	0,55
Diabète	11 (22)	22 (12)	0,07

IMC : indice de masse corporelle; IPE : insuffisance pancréatique exocrine

Deux tiers des cas étaient colonisés à *Pseudomonas aeruginosa* contre la moitié des témoins ($p=0,36$), et 70 % étaient colonisés à *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline (SASM) contre 63% des témoins ($p=0,41$) (*Tableau1bis*).

L'ECBC était positif à *Aspergillus fumigatus* chez 36% des cas et 26% des témoins ($p=0,16$), et l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) était plus fréquemment retrouvée chez les cas de façon significative : 32% vs 14% ($p=0,006$).

Un traitement par corticoïdes inhalés était prescrit chez les deux tiers des cas et la moitié des témoins ($p=0,34$). On retrouvait de façon significative plus de cures annuelles intra veineuses d'antibiotiques chez les cas que chez les témoins : 38% vs 16% ($p=0,001$). Un traitement par IPP était prescrit chez 38% des cas et 45% des témoins ($p=0,11$).

Tableau 1Bis. Description de la population générale

	Cas n=50	Témoins n=187	Valeur de p
Colonisation			
<i>P. aeruginosa</i>	30 (60)	92(49)	0,36
SARM	4 (8)	21 (11)	0,61
SASM	35 (70)	118 (63)	0,41
<i>Aspergillus fumigatus</i>	18 (36)	48 (26)	0,16
ABPA	16 (32)	26 (14)	0,006
Traitement			
Azithromycine	19 (38)	63 (34)	0,62
Corticoïdes per os	4 (8)	7 (4)	0,25
Corticoïdes inhalés	31 (62)	101 (54)	0,34
Cures ATB IV > 4/an	19 (38)	30 (16)	0,001
IPP	19 (38)	85 (45)	0,11

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline, SASM : *Staphylococcus aureus* sensible à la pénicilline, ABPA : Aspergillose broncho-pulmonaire allergique, ATB IV: cures antibiotiques intraveineuses, IPP : inhibiteur de la pompe à protons

2. Description des cas

Au sein des 50 cas, la proportion de *Mycobacterium Abscessus* (MAB) était de 56% et celle de *Mycobacterium avium complex* (MAC) de 34%. Quatre autres mycobactéries atypiques étaient retrouvées chez 5 patients, *Mycobacterium Lentiflavum*, *Kansasii*, *Chelonae* et *Gordonae*.(tableau 2)

Au sein des deux groupes (MAB et MAC), on ne notait pas de différence significative en termes de comorbidités, de colonisations ou de traitement au long cours.

L'antibiogramme était réalisé chez 36 patients (72%) : dans 26 cas, il existait une sensibilité aux macrolides, dans 10 cas une résistance (9 MAB et 1 MAC).

Dix neuf patients étaient traités au long cours par de l'azithromycine. Chez ces 19

patients, 13 antibiogrammes étaient disponibles : 8 MNT étaient sensibles aux macrolides (42%) et 5 étaient résistantes (26%).

Deux groupes de patients se distinguaient à la mise en évidence de la mycobactérie atypique :

1) Patients infectés (n=28 soit 56%) : patients dont les tableaux clinique, radiologique et microbiologique correspondaient aux critères d'infection respiratoire tels que définis par l'ATS, et pour lesquels un traitement était débuté.

2) Patients colonisés (n=22 soit 44%) : patients qui ne répondaient pas à ces critères, et qui n'étaient pas traités.

L'éradication était obtenue chez 31 des 50 cas (62%). Certains patients non traités éradiquaient spontanément leur mycobactérie.

Tableau 2. Description des cas

	Cas n=50
Microbiologie	
MAB	28 (56)
MAC	17 (34)
Autres	5 (10)
Prise en charge	
Traitement	28 (56)
Éradication	31 (62)

Les deux groupes présentaient les mêmes données anthropométriques et la même proportion de comorbidités (*tableau3*).

Concernant les données microbiologiques, on notait une fréquence accrue de colonisation aspergillaire chez les patients infectés (p=0,03). Un examen direct positif était plus fréquemment retrouvé chez les patients infectés (p=0,08) (*Tableau 4*).

Tableau 3. Description clinique des cas

n=50	Colonisés n=22 Médiane (Q1-Q3)	Infectés n=28	p
Anthropométrie			
Age	17,5 (14-33)	19,5 (16,5-27,5)	0,35
Poids	54,5 (39-62)	50 (39-60)	0,58
IMC	20,5 (17-23)	18,5 (17,5-20)	0,19
VEMS	62 (58-94)	65 (45-84)	0,38
CVF	80 (74-89)	76 (52-90)	0,33
Comorbidités			
Homozygotie Δ F508	8 (36%)	11 (39)	0,83
IPE	18 (82)	24 (85)	0,7
Diabète	3 (14)	8 (28)	0,3

IMC : indice de masse corporelle ; IPE : insuffisance pancréatique exocrine

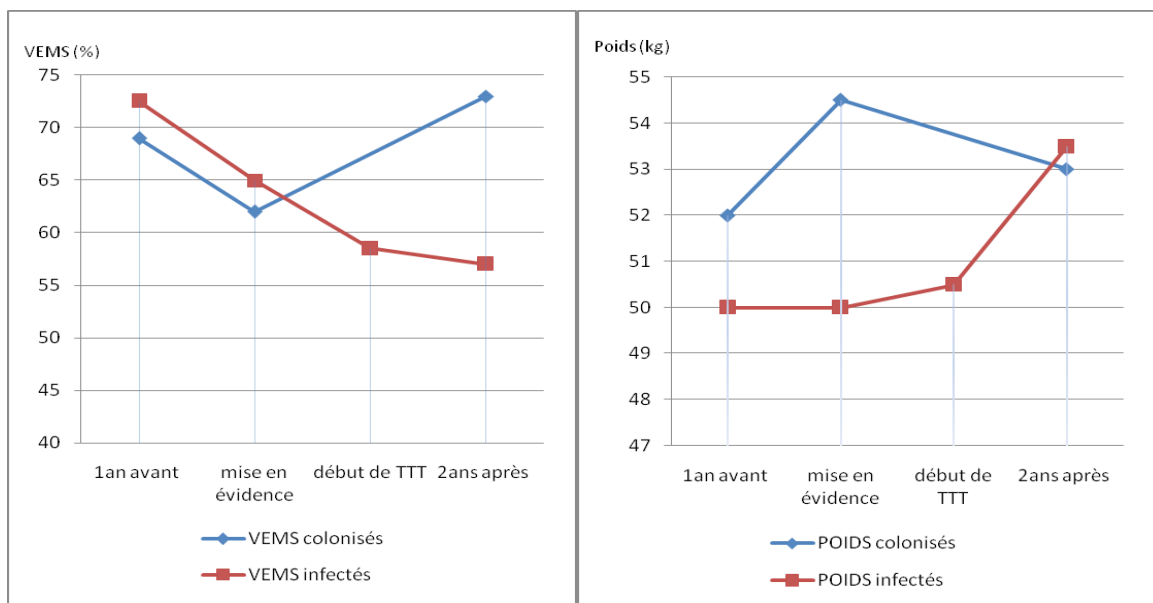
Tableau 4. Microbiologie et traitements

	Colonisés n=22	Infectés n=28	p
Microbiologie			
MAB	9 (41)	19 (68)	0,3
MAC	8 (36)	9 (32)	0,3
Autres	5 (23)	0	
Examen direct positif	5 (23)	13 (46)	0,08
Colonisation <i>P.aeruginosa</i>	12 (54)	18 (64)	0,48
Colonisation SASM	17 (77)	18 (64)	0,31
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4 (18)	14 (50)	0,03
ABPA	5 (23)	11 (39)	0,21
Traitements antérieurs			
Azithromycine	9 (41)	10 (36)	0,7
Corticoïdes inhalés	12 (54)	19 (68)	0,33
Cures ATB > 4/an	8 (36)	11 (39)	0,83
IPP	10 (45)	9 (33)	0,38
Eradication	15 (68)	16 (57)	0,42

MAB : *mycobacterium abscessus*; MAC : *mycobacterium avium complex* ; SASM : *staphylococcus aureus* sensible à la métiline ; ABPA : aspergillose broncho-pulmonaire allergique ; IPP : inhibiteurs de la pompe à protons

La sévérité clinique et fonctionnelle des patients colonisés et infectés était similaire au moment de l'identification des mycobactéries. L'année précédant l'identification de la mycobactérie, il existait un déclin du VEMS identique dans les 2 populations, non associé à une perte de poids. Dès la mise en évidence de la MNT, jusqu'à la fin du traitement, le déclin du VEMS était, de manière significative, plus important chez les patients infectés (-8%) que chez les sujets colonisés surveillés (+11,5%), ($p < 0,02$) (figure1).

Après le début du traitement, le poids des patients infectés s'améliorait (+3,5kg) alors que les patients colonisés perdaient du poids (-1,5kg).



IV. Discussion

Le diagnostic et la prise en charge des colonisations à MNT deviennent des problèmes émergents chez les patients atteints de mucoviscidose. En effet, le traitement est long et difficile, et cette colonisation représente une contre indication relative à la transplantation pulmonaire.

L'objectif de cette étude était d'identifier les facteurs associés à la colonisation par une mycobactérie atypique chez les patients atteints de mucoviscidose.

Plusieurs points se dégagent de notre étude : les patients colonisés à mycobactéries atypiques sont de manière significative plus dénutris. Il s'agit d'une population plus sévère, les patients ont en moyenne plus de quatre cures d'antibiotiques par voie intra veineuse par an, et présentent plus souvent une ABPA. La corticothérapie inhalée ou systémique, le traitement par IPP ou l'azithromycine ne sont pas des traitements associés à l'émergence d'une MNT.

En comparant la population des patients infectés à MNT selon les critères ATS (et donc traités), et les patients colonisés, qui ne répondaient pas aux critères ATS, il existait une colonisation plus fréquente à *Aspergillus fumigatus* et une chute plus importante du VEMS sur deux ans d'évolution.

Parmi nos patients colonisés ou infectés à MNT, *M.abscessus* était la plus fréquemment retrouvée, suivie par *M.avium complex*. *M.abscessus* est une mycobactérie à croissance rapide (inférieure à 7 jours), et est retrouvée plus fréquemment en Europe de l'Ouest et en Israël. En France, la prévalence de MNT la plus élevée était observée à Paris, Bordeaux, et la prévalence la plus faible dans l'Est du pays (9)(10). Les mycobactéries du groupe *M.avium complex* ont une croissance lente, et sont prédominantes aux Etats-Unis (72% de *M.avium* contre

16% de *M.abscessus*)(8). La prévalence de *M.avium complex* variait de 22% à 8% entre les régions sud et Nord-Est. *M.abscessus* est fréquemment associée à des formes plus sévères d'infection et à une moins bonne réponse au traitement. Dans une large étude de prévalence française publiée en 2013, Catherinot et al. s'intéressaient aux facteurs associés à la colonisation à *M.abscessus* et *M.avium complex*. 50 patients colonisés à *M.abscessus* et 23 patients colonisés à *M.avium complex* étaient comparés. Les patients colonisés à *M.avium complex* étaient significativement plus âgés que les patients colonisés à *M.abscessus* ($p=0,013$), et étaient également plus âgés au moment du diagnostic de mucoviscidose. L'homozygotie $\Delta F508$ avait tendance à être moins fréquente chez les patients colonisés à *M.avium complex*, de même que l'utilisation d'extraits pancréatiques (19). Dans notre étude, 56% des cas étaient colonisés à *M.abscessus* et 34% à *M.avium complex*, et aucune comorbidité n'était spécifiquement associée à l'une ou l'autre des mycobactéries atypiques.

En comparant les données anthropométriques et fonctionnelles des cas et des témoins, on ne retrouve pas de différence en terme d'âge, ni de VEMS. Dans l'étude cas-témoins menée de façon prospective en 2003 dans 21 centres américains par Oliver et al., les patients colonisés par MNT étaient significativement plus âgés de quatre ans et avaient un VEMS plus élevé de 6% (8). Levy et al., dans une étude cas-témoins menée dans sept centres israéliens, incluant 186 patients sur deux ans, rapportaient également un âge plus élevé, mais un VEMS plus bas (18). Dans l'étude de Catherinot et al. précédemment citée, le seul facteur significativement associé à l'infection à *M.avium complex* en analyse multivariée était un âge plus élevé au diagnostic de mucoviscidose ($p=0,004$). Il n'y a avait pas de différence en terme de statut nutritionnel, diabète, fonction respiratoire entre les cas et les témoins (19).

Nos cas apparaissent plus dénutris que les témoins, et ont une tendance plus élevée au diabète. Esther et al. ont mené une étude rétrospective monocentrique chez 271 patients, en s'intéressant à toutes les cultures positives à MNT entre 2000 et 2007 dans un centre universitaire américain. L'objectif était d'étudier l'impact clinique de l'infection chronique à MNT, et l'évolution sur trois ans. Le diabète était plus fréquemment retrouvé chez les cas de MNT mais uniquement dans la population pédiatrique. De plus, les patients colonisés à *M.abscessus* présentait un moins bon état nutritionnel que les patients non infectés à MNT (20). Ce point souligne l'importance de la prise en charge nutritionnelle chez les patients atteints de mucoviscidose. Ces patients ont une dénutrition multifactorielle : syndrome de malabsorption digestive, anorexie, augmentation de la dépense énergétique qui s'aggrave avec l'insuffisance respiratoire, état inflammatoire lié à l'infection pulmonaire chronique. Tous ces facteurs qui contribuent à la dénutrition doivent être évalués et pris en charge pour améliorer la masse maigre des patients (28).

De nombreuses études se sont intéressées aux colonisations bactériennes associées aux MNT. Nous n'avons pas montré d'association significative entre la présence de MNT et les colonisations par *Staphylococcus aureus* ou *Pseudomonas aeruginosa*. Les études réalisées à ce sujet sont contradictoires. Dans l'étude de Levy et al., la colonisation à *P.aeruginosa* était plus fréquemment associée à la présence de MNT (95,2% vs 65,3%). La prévalence de *S.aureus* ne différait pas entre les deux groupes (18). Olivier et al. trouvaient de façon plus fréquente la présence de *S.aureus* chez les patients colonisés à MNT ($p<0,01$), alors que la prévalence de *P.aeruginosa* était moins fréquente ($p<0,01$)(8). De même, dans l'étude d'Esther et al., *P.aeruginosa* était moins souvent retrouvé chez les cas que chez les témoins (20).

Nous avons mis en évidence une administration plus fréquente de cures antibiotiques intra veineuses par an chez nos patients colonisés que chez les cas (38% vs 16%, $p=0,001$). Cette antibio-dépendance est, de même que la dénutrition, un marqueur de sévérité de la maladie. Ceci concorde avec le travail de Catherinot et al. réalisé sur une population française, qui concluait à une association entre l'administration d'au moins une cure antibiotique intraveineuse dans l'année précédente, et l'infection à *M.abscessus* (19). Dans l'étude menée en Israël par Levy et al., les patients infectés à MNT étaient également plus fréquemment traités par antibiotiques intraveineux (en moyenne 35,2 jours d'antibiothérapie de plus que les patients témoins, $p=0,007$)(18). Il semble donc que la colonisation à MNT survienne chez des patients très fréquemment soumis à des antibiothérapies intra veineuses.

L'existence d'une aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) apparaît comme associée à une colonisation à MNT. Ces résultats rejoignent ceux de plusieurs études. La présence d'*Aspergillus fumigatus* dans les expectorations était plus fréquente en cas de MNT dans les études de Esther et al. (13,9% vs 7,2% $p<0,01$) et Levy et al. (66,7% vs 21,5% $p< 0,0001$). Dans une étude menée en Israël sur cinq ans et publiée en 2005, incluant 139 patients âgés de 2 à 52 ans, Mussaffi et al. font état d'une association forte entre infection à MNT et ABPA (21). Cette association était également mentionnée dans une étude prospective menée par Sermet et al. dans une petite cohorte pédiatrique, au sein de l'hôpital Necker de Paris (3 enfants sur les 15 infectés à *M.abscessus* présentaient une ABPA)(9). Chez des patients indemnes de mucoviscidose, Kunst et al. cherchaient à étudier la relation entre colonisation aspergillaire et colonisation à MNT chez les patients présentant des broncheectasies. Cette étude cas-témoins monocentrique menée au Royaume-Uni comparait 30 patients présentant des broncheectasies et colonisés à MNT (cas), et 61 patients présentant des broncheectasies, sans MNT retrouvée

(témoins). Il était retrouvé une fréquence accrue de maladie aspergillaire chez les cas, par rapport aux patients témoins (22). Cette relation entre colonisation à MNT et ABPA pourrait être liée à des facteurs immunitaires propres à l'hôte. En effet, l'ABPA oriente la balance immunitaire vers une immunité cellulaire T CD4+ de type Th2, avec une sécrétion élevée d'interleukines II4, II5, II10. Ceci entraîne une diminution de la réponse Th1, avec diminution notamment de la sécrétion d'interféron gamma. Or, celui-ci est crucial pour l'éradication des MNT, en favorisant notamment les fonctions macrophagiques (21). Ceci pourrait expliquer une colonisation à MNT chez les patients colonisés à *Aspergillus* et qui développent une ABPA.

Nous nous sommes également intéressés à la relation pouvant exister entre les traitements habituels utilisés dans le cadre de la mucoviscidose, et la survenue d'une infection à MNT. Nous ne retrouvons pas d'association avec la prise de corticoïdes inhalés et oraux, ni d'inhibiteurs de la pompe à protons. Dans leur étude précédemment citée, Mussaffi et al. retrouvaient une relation entre infection à MNT et corticothérapie systémique (cinq des six patients infectés à MNT selon les critères ATS avaient reçu une corticothérapie systémique prolongée). Ceci pourrait être lié à la diminution de l'immunité innée pulmonaire, impliquant l'interféron gamma, secondaire à la corticothérapie (21). Ces résultats sont nuancés par le faible nombre de patients étudiés. A contrario, Olivier et al. faisaient état d'une utilisation moins fréquente de corticoïdes systémiques chez les patients porteurs de MNT que chez les patients contrôles dans leur étude cas témoins de 2002 (23). Dans l'étude française de Catherinot et al. 30 patients étaient colonisés à *M.abscessus* et comparés à 60 patients témoins. L'objectif était de déterminer si le fait de recevoir au long cours des traitements par corticoïdes inhalés, aérosols de rhDnase (Pulmozyme®) ou d'antibiotiques, ou azithromycine à dose anti-inflammatoire, était un facteur de risque d'émergence de *M.abscessus*. Il n'était pas retrouvé

d'association entre ces différents traitements et la colonisation à *M.abscessus*. Les corticoïdes inhalés avaient une tendance à être plus fréquemment utilisés dans le groupe témoin, mais de façon non significative. Les traitements inhalés et l'azithromycine n'étaient pas plus fréquemment utilisés dans les centres présentant une prévalence élevée de *M.abscessus* (24). Dans leur deuxième étude, qui comparait les populations ciblées par *M.avium complex* et *M.abscessus*, Catherinot et al. trouvaient une association négative entre corticothérapie inhalée et colonisation à *M.abscessus* (OR= 0,06 [0,006-0,7] p=0,03) (19).

Nous n'avons pas mis en évidence d'association statistique entre la présence de MNT et la prise d'azithromycine. L'azithromycine à faibles doses au long cours est largement utilisé à visée anti inflammatoire. Il permettrait d'inhiber la formation du biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*, et permettrait de diminuer le nombre d'exacerbations et d'améliorer la fonction respiratoire. Plusieurs équipes se sont récemment intéressées à l'association possible entre prise d'azithromycine au long cours et émergence de MNT, avec des résultats contradictoires. Dans l'étude publiée en 2008 par Levy et al., l'azithromycine apparaît comme un facteur de risque de colonisation à MNT (71,5% des cas contre 51,4% des témoins étaient traités au long cours)(18). Cette relation est également suggérée dans un travail publié en 2011 par Renna et al., qui retrouvait in vitro et dans un modèle murin une association significative entre l'utilisation d'azithromycine au long cours et le développement d'infections à MNT, particulièrement à *M.abscessus*. L'hypothèse serait que l'azithromycine bloque la destruction intra-macrophagique des mycobactéries par diminution de l'acidification des lysosomes ayant pour conséquence une colonisation chronique à MNT (25). Récemment, trois études contredisent ces résultats. Dans leur étude portant sur le rôle des thérapies inhalées et de l'azithromycine dans l'émergence de MAB, Catherinot et al. ne mettaient pas en évidence de relation entre

la prise d'azithromycine depuis quatre ans et l'infection à *M.abscessus* (24). Burgel et al., dans une étude cas-témoins menée de 2006 à 2010, incluant 45 patients colonisés ou infectés à MNT, retrouvaient même une réduction du nombre de colonisations et d'infections à MNT chez les patients traités par de faibles doses d'azithromycine (26). De même, une étude cas-témoins conduite à partir des données du registre de la mucoviscidose aux Etats-Unis par Binder et al. retrouvait une colonisation moindre à MNT chez les patients qui avaient reçu le plus longtemps un traitement par azithromycine. Ils mettaient également en évidence que le risque était encore plus faible de contracter une MNT chez les patients bénéficiant d'un traitement par macrolides depuis cinq ans ou plus, témoignant peut être d'un effet protecteur de l'azithromycine (27).

Concernant l'évolution clinique des patients infectés, on observait un déclin plus rapide du VEMS dès la mise en évidence de la MNT, par rapport aux patients colonisés bénéficiant d'une surveillance. En 2002, Olivier et al. étudiaient l'impact clinique des MNT par le déclin annuel du VEMS et l'évolution des images pulmonaires scannographiques. Soixante patients porteurs de MNT étaient comparés à quatre vingt dix neuf témoins, chez qui les cultures étaient négatives. Le déclin annuel du VEMS n'était pas différent entre le groupe témoin, et les patients colonisés à MNT, qu'ils remplissent ou non les critères ATS d'infection (23). Esther et al. s'intéressaient également à l'impact fonctionnel des MNT, en relevant pendant trois ans les données cliniques de 271 patients dont 95 colonisés à MNT. Au début de l'étude, le VEMS n'était pas différent entre les patients infectés à MNT et les témoins. Le groupe infecté à MAB avait ensuite un déclin annuel du VEMS plus rapide de 0,78% par rapport aux témoins. Le groupe infecté à MNT autre que *M.abscessus* présentait un déclin intermédiaire entre groupe témoin et groupe infecté à *M.abscessus* ; la différence n'étant pas statistiquement significative avec les

témoins. Au total, la diminution annuelle du VEMS des patients infectés à MNT, toutes espèces confondues, était significativement plus élevée. Les auteurs soulignaient le fait que la chute du VEMS était plus marquée lors de l'infection à *M.abscessus*, alors que cette infection implique des traitements antibiotiques plus conséquents (20).

Cette étude cas-témoins comporte un certain nombre de limites. Tout d'abord, il s'agit d'une étude rétrospective, et un certain nombre de données sont manquantes. Nous avons inclus dans notre travail un petit nombre de CRCM, et en l'absence de recommandations précises sur la prise en charge des mycobactéries non tuberculeuses dans la mucoviscidose, les pratiques diffèrent d'un centre à l'autre. Le diagnostic et la prise en charge des colonisations à MNT chez les patients suivis pour mucoviscidose sont complexes. Les critères ATS d'infection sont difficilement applicables dans un contexte de mucoviscidose, chez des patients constamment symptomatiques du fait de la pathologie en elle même et de la colonisation bactérienne. Cependant, ce diagnostic est crucial, l'infection à MNT pouvant entraîner une dégradation rapide de la fonction respiratoire, dont on sait qu'elle est un des facteurs pronostics majeurs dans la mucoviscidose. La prise en charge n'est pas standardisée. Il reste à déterminer à quelle fréquence il faut faire un ECBC à la recherche de mycobactérie, sur quels critères démarrer une antibiothérapie, et quel est le schéma thérapeutique à adopter sachant que selon les recommandations ATS, un traitement d'au moins douze mois est nécessaire (5).

V. Conclusion

Dans notre étude cas-témoins, la colonisation à MNT est plus fréquente chez les patients dénutris, ce qui souligne à nouveau l'importance de la prise en charge nutritionnelle de ces patients, dont la dénutrition est multifactorielle. Nous retrouvons une association entre la colonisation à mycobactéries non tuberculeuses et une aspergillose broncho-pulmonaire allergique, ce qui est concordant avec toutes les études antérieures. La colonisation à mycobactéries doit donc être recherchée par un ECBC avec mise en culture sur des milieux spécifiques au minimum 2 fois par an chez tous les patients, et ce d'autant qu'ils ont une ABPA ou qu'ils sont antibio-dépendants. Nous ne retrouvons pas d'association entre la prise d'azithromycine au long cours et l'émergence de MNT, ce qui rejoint les résultats de trois études récentes.

Lorsqu'il existe une infection à MNT (selon les critères ATS), la dégradation du VEMS est plus importante que chez les patients colonisés. C'est chez ces patients qui altèrent leur VEMS sans autre étiologie retrouvée qu'il faut identifier des critères pour débiter un traitement au bon moment. Les modalités de ce traitement ne sont pas consensuelles, et des études prospectives nationales permettraient d'améliorer la compréhension et la prise en charge de cette infection, et d'harmoniser la prise en charge au sein des différents CRCM.

VI. Références bibliographiques

1. Burns JL, Emerson J, Stapp JR, Yim DL, Krzewinski J, Loudon L, et al. Microbiology of sputum from patients at cystic fibrosis centers in the United States. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* juill 1998;27(1):158-63.
2. Mearns MB, Hunt GH, Rushworth R. Bacterial flora of respiratory tract in patients with cystic fibrosis, 1950-71. *Arch Dis Child.* déc 1972;47(256):902-7.
3. Millar FA, Simmonds NJ, Hodson ME. Trends in pathogens colonising the respiratory tract of adult patients with cystic fibrosis, 1985-2005. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc.* déc 2009;8(6):386-91.
4. Griffith DE. Emergence of nontuberculous mycobacteria as pathogens in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 mars 2003;167(6):810-2.
5. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 févr 2007;175(4):367-416.
6. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 oct 2003;168(8):918-51.
7. rapport annuel 2012 - registre_francais_de_la_mucoviscidose_2012.pdf [Internet]. [cité 3 août 2014]. Disponible sur: http://www.vaincrelamuco.org/e_upload/pdf/registre_francais_de_la_mucoviscidose_2012.pdf
8. Olivier KN, Weber DJ, Wallace RJ, Faiz AR, Lee J-H, Zhang Y, et al. Nontuberculous mycobacteria. I: multicenter prevalence study in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 mars 2003;167(6):828-34.
9. Sermet-Gaudelus I, Le Bourgeois M, Pierre-Audigier C, Offredo C, Guillemot D, Halley S, et al. Mycobacterium abscessus and children with cystic fibrosis. *Emerg Infect Dis.* déc 2003;9(12):1587-91.
10. Roux A-L, Catherinot E, Ripoll F, Soismier N, Macheras E, Ravilly S, et al. Multicenter study of prevalence of nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis in France. *J Clin Microbiol.* déc 2009;47(12):4124-8.
11. Leung JM, Olivier KN. Nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med.* févr 2013;34(1):124-34.
12. Le Bourgeois M, Sermet-Gaudelus I, Catherinot E, Gaillard JL. [Nontuberculous mycobacteria in cystic fibrosis]. *Arch Pédiatrie Organe Off Société Fr Pédiatrie.* août 2005;12 Suppl 2:S117-21.
13. Ebert DL, Olivier KN. Nontuberculous mycobacteria in the setting of cystic fibrosis. *Clin Chest Med.* sept 2002;23(3):655-63.

14. Coolen-Allou N, Burgel P-R. Mycobactéries non tuberculeuses et mucoviscidose. *J Anti-Infect.* mars 2012;14(1):35-41.
15. Lobo LJ, Chang LC, Esther CR, Gilligan PH, Tulu Z, Noone PG. Lung transplant outcomes in cystic fibrosis patients with pre-operative *Mycobacterium abscessus* respiratory infections. *Clin Transplant.* août 2013;27(4):523-9.
16. Qvist T, Pressler T, Thomsen VO, Skov M, Iversen M, Katzenstein TL. Nontuberculous mycobacterial disease is not a contraindication to lung transplantation in patients with cystic fibrosis: a retrospective analysis in a Danish patient population. *Transplant Proc.* févr 2013;45(1):342-5.
17. Chalermkulrat W, Sood N, Neuringer IP, Hecker TM, Chang L, Rivera MP, et al. Non-tuberculous mycobacteria in end stage cystic fibrosis: implications for lung transplantation. *Thorax.* juin 2006;61(6):507-13.
18. Levy I, Grisaru-Soen G, Lerner-Geva L, Kerem E, Blau H, Bentur L, et al. Multicenter cross-sectional study of nontuberculous mycobacterial infections among cystic fibrosis patients, Israel. *Emerg Infect Dis.* mars 2008;14(3):378-84.
19. Catherinot E, Roux A-L, Vibet M-A, Bellis G, Ravilly S, Lemonnier L, et al. *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium abscessus* complex target distinct cystic fibrosis patient subpopulations. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc.* janv 2013;12(1):74-80.
20. Esther CR, Esserman DA, Gilligan P, Kerr A, Noone PG. Chronic *Mycobacterium abscessus* infection and lung function decline in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc.* mars 2010;9(2):117-23.
21. Mussaffi H, Rivlin J, Shalit I, Ephros M, Blau H. Nontuberculous mycobacteria in cystic fibrosis associated with allergic bronchopulmonary aspergillosis and steroid therapy. *Eur Respir J.* févr 2005;25(2):324-8.
22. Kunst H, Wickremasinghe M, Wells A, Wilson R. Nontuberculous mycobacterial disease and *Aspergillus*-related lung disease in bronchiectasis. *Eur Respir J.* août 2006;28(2):352-7.
23. Olivier KN, Weber DJ, Lee J-H, Handler A, Tudor G, Molina PL, et al. Nontuberculous mycobacteria. II: nested-cohort study of impact on cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 mars 2003;167(6):835-40.
24. Catherinot E, Roux A-L, Vibet M-A, Bellis G, Lemonnier L, Le Roux E, et al. Inhaled therapies, azithromycin and *Mycobacterium abscessus* in cystic fibrosis patients. *Eur Respir J.* mai 2013;41(5):1101-6.
25. Renna M, Schaffner C, Brown K, Shang S, Tamayo MH, Hegyi K, et al. Azithromycin blocks autophagy and may predispose cystic fibrosis patients to mycobacterial infection. *J Clin Invest.* sept 2011;121(9):3554-63.
26. P. Burgel, Morand P, Andureau E. Azithromycin and the risk of non tuberculous mycobacteria in adults with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2011;
27. Binder AM, Adjemian J, Olivier KN, Prevots DR. Epidemiology of nontuberculous mycobacterial infections and associated chronic macrolide use among persons with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 oct 2013;188(7):807-12.

28. Enright S, Chatham K, Ionescu AA, Unnithan VB, Shale DJ. The influence of body composition on respiratory muscle, lung function and diaphragm thickness in adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc.* 30 nov 2007;6(6):384–90.

AUTEUR : Cordier Justine

Date de Soutenance : 19 Novembre 2014

Titre de la Thèse : « Facteurs associés à la colonisation par mycobactéries non tuberculeuses dans la mucoviscidose »

Thèse - Médecine - Lille 2014

Cadre de classement : Pneumologie

DES + spécialité : Médecine générale

Mots-clés : Mucoviscidose – mycobactéries non tuberculeuses– *Aspergillus fumigatus* – dénutrition – antibio-dépendance

Résumé:

Contexte Les patients atteints de mucoviscidose représentent un groupe à risque de colonisation et d'infection par mycobactéries non tuberculeuses (MNT). Le diagnostic et la prise en charge des colonisations à MNT sont des problèmes émergents, d'autant qu'il n'existe pas de consensus.

Méthode Nous avons réalisé une étude rétrospective cas-témoins, multicentrique, dont l'objectif était d'identifier les facteurs associés à la colonisation par MNT. 50 cas et 187 témoins étaient inclus.

Résultats Les MNT les plus fréquemment retrouvées chez les cas étaient *Mycobacterium abscessus* (56%) et *mycobacterium avium complex* (34%). Les patients colonisés (cas) étaient plus dénutris que les témoins ($p=0,0004$). L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique était associée à la colonisation par MNT ($p=0,006$), de même que l'administration de plus de quatre cures antibiotiques par voie intra veineuse dans l'année ($p=0,001$). Il n'y avait pas de différence en terme de colonisations bactériennes par *Staphylococcus aureus* ou *Pseudomonas aeruginosa*. Les traitements inhalés et la prise d'azithromycine au long cours n'étaient pas associés à la colonisation par MNT. Nous avons ensuite comparé les patients infectés à MNT selon les critères ATS et donc traités, et les patients colonisés ne répondant pas à ces critères. La présence d'*Aspergillus fumigatus* était associée à l'infection ($p= 0,03$). On observait un déclin du VEMS plus important chez les patients infectés que chez les patients colonisés ($p<0,02$).

Conclusion Les patients colonisés à MNT étaient plus dénutris, ce qui souligne l'importance de la prise en charge nutritionnelle chez ces patients. Ils présentaient plus fréquemment une ABPA et étaient plus antibio-dépendants. La prise d'azithromycine au long cours n'était pas un facteur associé à l'émergence d'une MNT. Lors de l'infection à MNT, la dégradation du VEMS était plus importante que chez les patients colonisés.

Composition du Jury :

Président : Professeur B. Wallaert

Assesseurs : Professeur K.Faure ; Professeur R.Glantenet ; Docteur A.Prevotat