



# Mycobactéries et eau

Emmanuelle CAMBAU

Centre National de référence des mycobactéries et de la  
résistance aux antituberculeux (laboratoire associé)

Université Paris Diderot, Hôpital Saint Louis

en collaboration avec

Françoise LUCAS, Nicolas RADOMSKI, CEREVE, Université Paris  
12, Ecole Nationale des Ponts et Chaussées

Laurent MOULIN, Sophie HAENN, CRECEP

Alexandra AUBRY, CNR MyRMA



CNRMyRMA

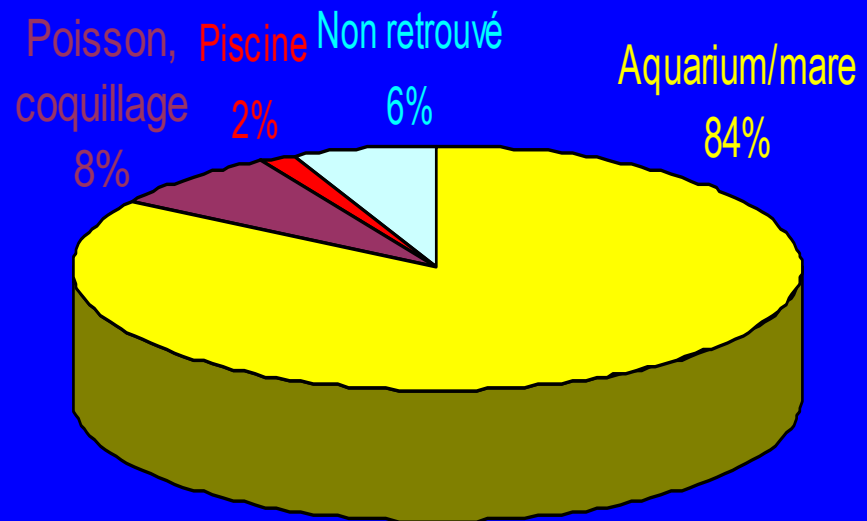


# Infections à *Mycobacterium marinum*

---

## Enquête en France (CNR) 1996-1998

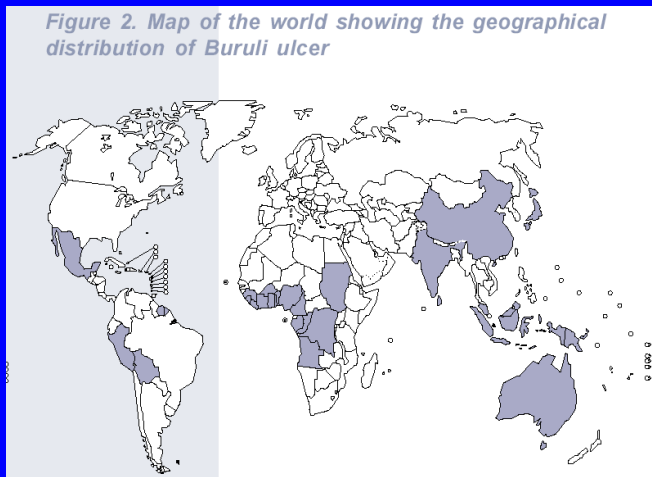
- 63 malades : 37 hommes, 26 femmes; âge médian = 46 ans, extrêmes : 4 – 77 ans
- Infection cutanée (45) + adénopathies (10) + ostéo-articulaire (18)
- Membre supérieur (90%)



# Infection à *M. ulcerans* ou Ulcère de Buruli

---

- En augmentation jusqu'à 200/100 000 ha dans certaines régions (programme OMS depuis 1998)
- En étroite association avec l'eau : barrage, lacs, canaux d'irrigation, golfs arrosés
- Développement dans des insectes aquatiques (Naucoridae)



Marsollier et al., 2002, 2004

# Épidémies de mycobactérioses liées à l'eau chez l'immunocompétent

---

- *M. xenopi* / Chirurgie disco-vertébrale : 58 cas (Astagneau Lancet 2001)
- 114 *M. abscessus* / post-op (Huang 2000)
- 100 *M. fortuitum* / manucurie-pedicurie (Winthrop 2002)
- 205 *M. abscessus* / post-injection (Villanueva 1997)
- 14 *M. chelonae* / mesotherapie (CDC 2005)
- 32 *M. abscessus* / acupuncture (Tang 2006)
- 49 divers / mésothérapie (Rivera-Oliveiro 2006)
- 34 *M. chelonae* / liposuccion (Meyers 2002)



# Epidémies d'infection cutanées à mycobactéries liées à l'eau

---

- Déclarations DDASS, CCLIN et interventions du CNR: 6 depuis 2007
- Mésothérapie (2), sclérothérapie, carboxythérapie, dialyse rénale (2)
- Nombre maximum de cas connus par épidémie = 16 cas / mésothérapie (Regnier 2009, Carbonne 2009)
- inoculation d'eau du réseau > exposition à des eaux naturelles
- Mycobactéries à croissance rapide: *M. chelonae*

# Epidémiologie des infections à mycobactéries non tuberculeuses

---

- Habitat des mycobactéries atypiques :
  - saprophytes de l'environnement: sols et eau
  - commensales transitoires : peau, muqueuses, tube digestif (27%)
- Pathogènes opportunistes : Mycobactérioses
  - Infections respiratoires, adénopathies, cutanées, ostéo-articulaires ou généralisée
- Incidence estimée à 0,5 à 2/100 000 ha selon les pays → environ 500 cas /an / France
  - ↗ avec l'épidémie de SIDA, Immunodépressions thérapeutiques (anti-TNF, corticoïdes), gestes invasifs (chirurgie, mésothérapie,...)
  - Problèmes de diagnostic, de traitement et de prévention

# Transmission des mycobactéries atypiques

## Pas de transmission interhumaine

### Voie de contamination ?

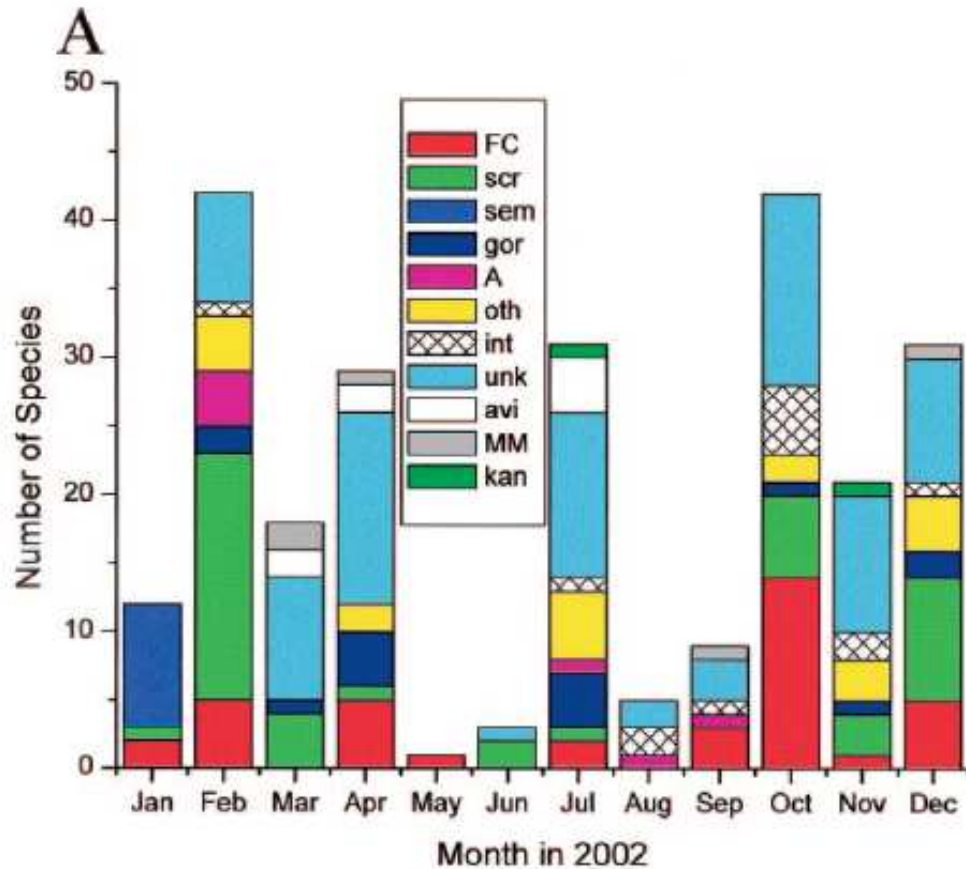
**EAU**

Aérosols	→	douches, eaux chaudes, arrosage
Consommation	→	boisson, lavage des aliments
Contact / plaie	→	aquarium, baignade, poissons et coquillages ( <i>M. marinum</i> *)
Inoculation directe	→	iatrogènes et nosocomiales

# Présence des mycobactéries dans les eaux naturelles

=> Diversité  
et variation saisonnière

Rio Grande, USA  
(Bland et al. (2005))



*M. fortuitum*

*M. intracellulare*

*M. scrofulaceum*

*M. simiae*

*M. kansasii*

*M. gordonae*

*M. avium*

*M. malmoeense ou marinum*

Non identifié

autres espèces rares



# Réservoirs hypothétiques de mycobactéries dans l'eau



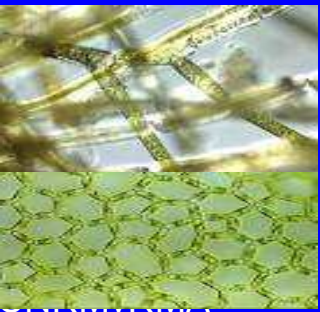
**Poissons** destinés la consommation humaine  
poissons en milieu naturel  
poissons d'ornement  
(Heckert 2001, Beran V 2006)



**Protozoaires** ubiquitaires de l'eau  
(Miltner *et al.* 2000; Adékambi *et al.* 2006; Steinert *et al.* 1998)



**Insectes** aquatiques : *Naucoridae*  
(Marsollier *et al.* 2002; Marsollier *et al.* 2004 )

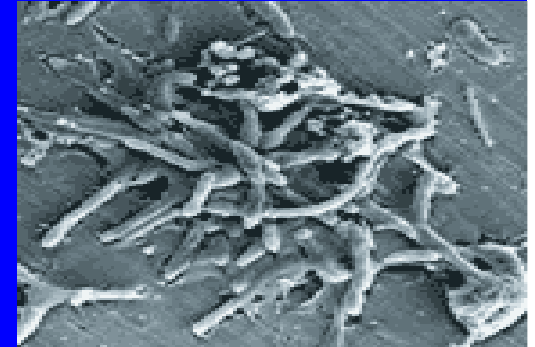


**Plantes** aquatiques de régions tropicales et tempérées :  
*Rhizoclonium, Hydrodictyon*  
(Marsollier *et al.* 2004)

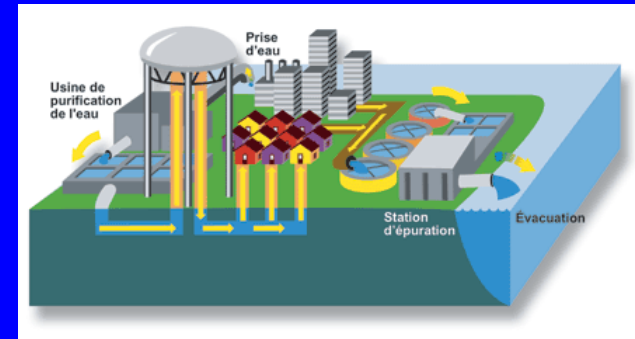
## Présence des mycobactéries dans l'eau traitée (réseaux)



Se multiplient dans les réseaux d'eau de distribution d'autant plus qu'il est riche en matières organiques (Falkinham *et al.* 2001)



Présentes dans le système de traitement et de distribution de l'eau (Paris, Le Dantec *et al.* 2002)



Résistent aux traitements de l'eau comme le chlore ou l'ozone (Falkinham *et al.* 2001; Le Dantec *et al.* 2002), d'autant plus que l'eau est riche en substances organiques non solubles (Steed and Falkinham 2006)

# Présence de mycobactérie dans l'eau potable ( au robinet)

---

- Etude Le Dantec 2002 (Paris)
  - 114 prélèvements avant bâtiments : 104 positifs (72%)
  - 7% des cultures positives à *M. chelonae*
- Hussein 2008 (Allemagne)
  - 93 prélèvements hospitaliers
  - 43% positive pour les eaux froides
  - 73% positive pour les eaux chaudes

# Quelle quantité de mycobactéries dans les eaux?

Auteur	Type d'eau	Pays (Ville)	Gamme de concentration
Vaerewijck 2005	Système de distribution d'eau potable	Pays développés	1-3,5.10 <sup>3</sup> ufc/l
Le Dantec 2002	Eau souterraine et eau de station d'épuration	France (Paris)	1-5.10 <sup>2</sup> ufc/l
Torvinen 2004	Système de distribution d'eau potable	Finlande	1-1.10 <sup>3</sup> ufc/l
Lumb 2004	Eau d'un organisme de remise en forme (spa pool)	Australie	1-4.3.10 <sup>7</sup> ufc/l
Hilborn 2006	Système de distribution d'eau	USA (western)	1-1.10 <sup>3</sup> ufc/l
Torkko 2001	Eau naturelle de l'environnement	Finlande (western)	9.7.10 <sup>2</sup> - 5.8.10 <sup>3</sup> ufc/l

⇒ De 100 à 10 millions de mycobactérie par litre d'eau

⇒ Etudes n'utilisant pas la même méthode de dénombrement

# Quantification expérimentale des mycobactéries par culture

---

- Perte de 50% des bacilles lors de la concentration : centrifugation plus reproductible que filtration
- Perte de 90 à 99% lors de la décontamination (cétypyridinium moins destructeur que NaOH)
- Espèces à croissance rapide > espèces à croissance lente

⇒ Nombre obtenu x 1000

⇒ **Une espèce peut en cacher une autre!**

# Exemples de Mycobactéries isolées de l'eau

## • Seine

- *M. arupense*
- *M. austroafricanum*
- *M. insubricum*
- *M. llatzerense*
- *M. psychrotolerans*
- *M. porcinum*
- *M. setense*
- .....

## • Réseau distribution

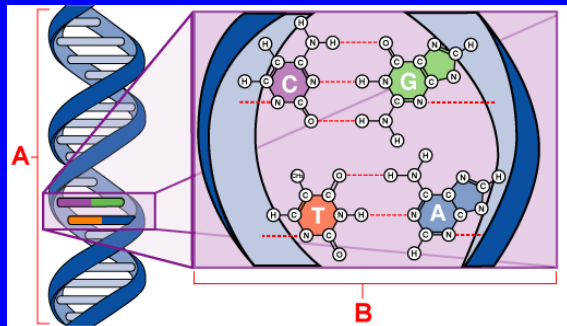
- *M. chelonae*
- *M. frederiksbergense*
- *M. immunogenum*
- *M. septicum*
- *M. fortuitum*
- *M. peregrinum*
- *M. fuerthensis*
- *M. mucogenicum*
- .....

Premières mesures : < 100 ufc/L à 1 million ufc /L

# Mycobactéries et eau où sont-elles et combien sont elles?

Nécessité de développer des méthodes de quantification

- Culture sur milieu solide
- Marqueurs moléculaires (ADN)



**=> Besoin de normalisation pour surveillance et prévention**

# Problèmes posés par les infections à mycobactéries liées à l'eau

---

1. Faire le diagnostic
2. Lier l'infection à la source de contamination (l'eau)
3. Difficulté de traitement car multirésistance naturelle des mycobactéries atypiques
4. Prévenir l'infection



# Standardisation du diagnostic bactériologique des cas

## Prélèvements par ponction

### 1. Recherche de Mycobactérie

Ziehl-Neelsen  
LJ à 30°C et 37°C  
1 MGIT ou  
BacTalert à 30°C

### 2. Recherche de bactéries usuelles

Gram  
Choco/Co2  
Schaedler

### 3. À conserver :

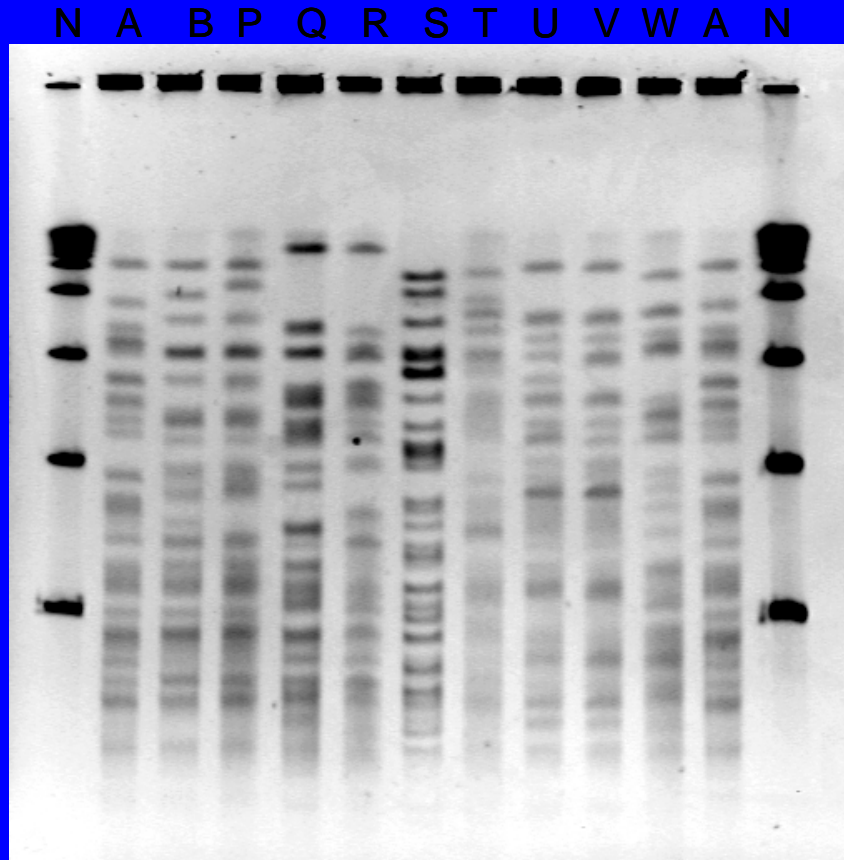
Frottis non coloré  
Prélèvement ou  
broyat congelé

# Standardisation du diagnostic bactériologique des cas et lier le cas à la source (eau)

---

- Identification précise (moléculaire) de toutes les mycobactéries isolées
- Conserver toutes les souches
- Faire un prélèvement d'eau en temps utile
- Envoyer au CNR les souches lorsque la source est connue ou fortement suspecte pour comparaison génétique et génomique

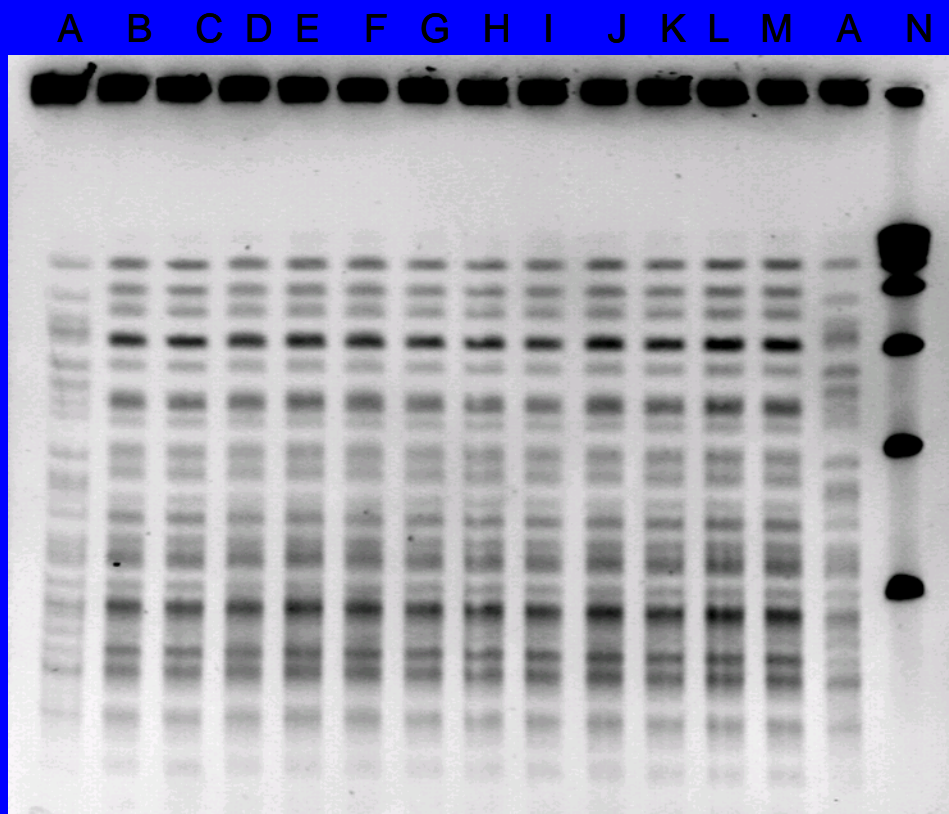
# Comparaison génomique des souches de *M. chelonae* isolées des cas / de l'eau



Résultat 1.  
Souches témoins  
non liées  
=> Profil différent

N : marqueur de poids moléculaire (Lambda Ladder), A : témoin  
4, B : cas 1, P : témoin 1, Q : témoin 2, R : témoin 9, S : témoin  
3, T : témoin 7, U : témoin 5, V : témoin 8, W : témoin 6

# Comparaison génomique des souches de *M. chelonae* isolées des cas / de l'eau



Résultat 2.  
Souches  
liées  
=> Profil non différent

noir 4, B : cas 1, C : cas 2, D : cas 3, E : cas 4, F : cas 5, G : cas 6, H : cas 7, I :  
J : cas 10, K : cas 14, L : cas 15, M : eau du cabinet de mésothérapie, N :  
leur de poids moléculaire (Lambda Ladder)

E Cambau -  
CNRMyRMA

F. Brossier, W. Sougakoff  
Pitié-Salpêtrière

# Multirésistance in vitro des souches de *M. chelonae*

Antibiotiques	CMI (mg/l)	Interprétation
Imipénème	>32	Résistant
Amikacine	16-32	Intermédiaire
Tobramycine	1-1,5	Sensible
Tétracycline	64-256	Résistant
Tigécycline	0,06-0,09	Sensible
Ciprofloxacine	1,5-3	Intermédiaire
Clarithromycine	0.09-0.12	Sensible
Linézolide	32-256	Résistant
Céfoxitine	>256	Résistant

L. Deforges, Henri Mondor

E Cambau -  
CNRMyRMA

## Bactéricidie in vitro sur *M. chelonae*

Antibiotique	Proportion de bactéries survivantes
Cla	10%
Cip	10%
Tige	100%
Tobra	10%
Cla + cip	1%
Cla + tige	1%
Cla + tobra	1%
Cip + tige	10%
Cip + tobra	10%
Tige + tobra	10%
Cla + cip + tige	1%
Cla + tige + tobra	10%
Cip + tige + tobra	1%
Cla + cip + tige + tobra	1%

**Bactéricidie médiocre avec 1% de bactéries survivantes  
quelles que soient les associations**

# Multirésistance in vivo?

## Evolution des cas sous traitement

---

- Antibiothérapie (quadru-, tri- ou bi-) de 1 sem à 6 mois
- 75% d'effets indésirables
- Apparition de nouvelles lésions cutanées sous traitement chez 75% des cas
- Disparition des lésions en 3 à 12 mois
- 85% de guérison à 13 mois mais cicatrices importantes

# Prévention

## Ex. recommandations pour les aquariophiles et professionnels

---

- **Port de gants** type « gants vétérinaires étanches » ⇒ difficile à appliquer car peu commode (perte du sens tactile, risque d'abîmer les écailles)
- En cas de lésions sur les mains : **porter des pansements étanches**, éviter le contact avec l'aquarium
- **Lavage des mains ou solutions hydro-alcooliques** après toute intervention sur les poissons ou leur environnement
- Eviter de rincer les masses filtrantes dans l'évier, de faire tremper les poissons dans la baignoire
- Eviter la surpopulation dans l'aquarium
- **Apprendre à reconnaître les signes de la maladie chez les poissons**
- Connaître les lésions chez l'homme pour **informer le médecin traitant**, réduire le délai diagnostique et ainsi améliorer la prise en charge



# Conclusion: mycobactéries et eau

- Méthode standardisé de recherche des mycobactéries dans l'eau
- Reconnaître la source pour les infections à MNT
- Prévenir
  - par le contrôle de l'eau à usage médical
  - Par l'information sur les risques liés à l'environnement

