

ENQUÊTE

ÉPIDÉMIOLOGIE MOLÉCULAIRE DE LA TUBERCULOSE AU SEIN DE LA COMMUNAUTÉ URBAINE DE BREST

V. Narbonne¹, P. Le Bris², M.C. Gutiérrez³, L. de Saint-Martin², M.L. Abalain¹,
S. Gouriou¹, M. Salaün¹, V. Vincent³ et B. Picard¹

INTRODUCTION

La tuberculose (TB) est responsable de près de 2 à 3 millions de décès chaque année dans le monde [1]. Bien que 98% des décès se produisent dans les pays en voie de développement, la TB reste un problème de santé publique majeur dans les pays industrialisés. Pour la région Europe de l'OMS, l'incidence des cas déclarés entre 1995 et 1996 était de 26/100 000 habitants (0 (San Marin, Monaco) à 195 (Géorgie)). Il était de 12,4 pour la France, 13,4 pour la région Bretagne.

Les moyens de contrôle de la transmission de la TB sont le diagnostic rapide de la maladie, un traitement adapté et la recherche de cas-contact. Le typage moléculaire de *Mycobacterium tuberculosis* a amélioré notre compréhension de la transmission de cette maladie. La méthode de référence est le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) basé sur la séquence IS6110. Elle permet notamment de détecter des épidémies, des contaminations intralaboratoires, d'évaluer la transmission entre différentes régions géographiques et d'identifier les facteurs de risque de transmission active.

La Communauté Urbaine de Brest (CUB) inclut Brest et sept villes environnantes (208 265 habitants), ce qui correspond approximativement à un quart de la population finistérienne. Nous avons procédé à l'étude par IS6110-RFLP de toutes les souches de *M. tuberculosis* isolées pendant un an dans la CUB. Ce travail a pour but d'évaluer le polymorphisme des souches et d'identifier les facteurs de risque associés à la transmission active de l'infection tuberculeuse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Population

La CUB regroupe Brest et 7 communes avoisinantes (Plougas-tel-Daoulas, le Relecq-Kerhuon, Guilers, Plouzané, Bohars, Gouesnou et Guipavas). Elle représente le quart de la population du Finistère (soit 208 265 habitants sur 838 662) avec :

- Une population à la fois urbaine et rurale ;
- Une répartition homogène de la population avec 48 % d'hommes et 52 % de femmes ;
- Un très faible nombre d'étrangers (7 552 dont 4 174 hors CEE, soit 0,9 % de la population).

Données de la DDASS

Les déclarations obligatoires faites à la DDASS en 1995 et 1996 ainsi que les enquêtes autour d'un cas effectuées dans le secteur de la CUB ont été collectées.

Souches de *M. tuberculosis*

L'étude a porté sur toutes les souches de *M. tuberculosis* isolées du 1^{er} septembre 1995 au 31 août 1996 de patients habitant au sein de la CUB. La majorité des souches ont été isolées au laboratoire du CHU Morvan à Brest, les autres étant transmises par les laboratoires d'analyses médicales privés.

L'analyse microbiologique des échantillons cliniques a consisté en la recherche de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) à l'examen direct suivie d'une culture sur milieu de Löwenstein-Jensen. L'identification a été réalisée par sonde moléculaire (GenProbe, San Diego, Calif.) et complétée par des tests biochimiques. Un antibiogramme a été effectué sur milieu solide par la méthode des proportions (Sanofi Pasteur Diagnostic, France).

Patients

Pour chaque souche reçue au laboratoire, un questionnaire a été adressé au médecin traitant, afin d'obtenir des informations d'ordre démographiques (âge, sexe, lieu de naissance, absence de domicile fixe, résidence en maison de retraite) ainsi que celles relatives à la tuberculose (localisation et évolution de la maladie, antécédents de TB, vaccination par le BCG, statut sérologique vis-à-vis du VIH, alcoolisme, notion de contagion tuberculeux).

En ce qui concerne les patients inclus dans un groupe après typage moléculaire, un médecin s'est mis en contact avec le médecin traitant et s'est déplacé dans les sites de contact présumés pour obtenir des précisions quant aux filières de transmission.

IS6110-RFLP

Après extraction, l'ADN bactérien a été digéré par l'enzyme *Pvu* II (5 U/mg; Roche Diagnostics). Les fragments obtenus ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose, transférés sur une membrane Hybond N+ (Amersham) puis hybridés avec sonde de 868-bp. La détection a été effectuée à l'aide du système ECL (Amersham). La souche de *M. tuberculosis* Mt 14323 a été utilisée comme référence en suivant les recommandations de van Embden [2]. Les souches de profils identiques ont été regroupées au sein de cluster.

La possibilité d'une contamination croisée entre les prélèvements n'a pas été retenue, car ces derniers n'ont pas été traités de façon concomitante.

Analyse des résultats

Les données du typage ont été analysées par classification ascendante hiérarchique, à l'aide du logiciel SPAD.N (CISIA, Saint Mandé, France). Les données concernant les patients ont été traitées à l'aide du logiciel Epilinfo 6 (CDC, Atlanta). La distribution des données dans les différents groupes a été comparée par le test du χ^2 et le test exact de Fisher.

RÉSULTATS

Patients

Trente-neuf patients, âgés de 25 à 94 ans, ont été inclus dans l'étude (Tab. 1). Le sexe ratio (H/F) était de 1,79. La majorité (34 soit 87 %) présentait une TB pulmonaire ; les autres localisations étaient pleurale, urogénitale, ganglionnaire et péritonéale. La présence de BAAR à l'examen direct était notée pour 17 d'entre eux (43,5 %). Pour 11 malades, la sérologie VIH était négative et non connue pour les autres. Cependant, aucun de ces malades n'était suivi en consultation dans les services prenant en charge les malades séropositifs pour le VIH.

Un seul patient était né à l'étranger (Maroc). Huit souffraient d'alcoolisme, 4 avaient des antécédents connus de tuberculose, 5 étaient sans domicile fixe. Trente-six patients étaient vaccinés par le BCG.

Tableau 1. Caractéristiques épidémiologiques des patients.

| Caractéristiques | Homme (n = 25) | Femme (n = 14) |
|---------------------------------|----------------|----------------|
| Âge moyen | 54.2 ± 17.2 | 69.4 ± 22 |
| Résidence en maison de retraite | 2 | 4 |
| Sans domicile fixe | 5 | 0 |
| Alcoolisme | 8 | 1 |
| Vaccination par le BCG | 23 | 13 |
| TB pulmonaire | 21 | 13 |
| Examen direct positif | 11 | 6 |
| Antécédents connus de TB | 2 | 2 |

Sensibilité aux antituberculeux

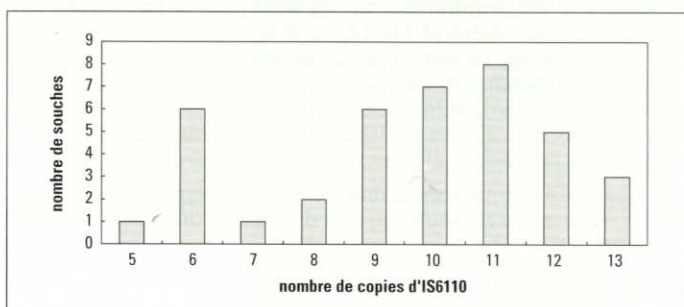
Les 39 souches étaient sensibles à la rifampicine et à l'isoniazide. Cinq d'entre elles (13 %) étaient résistantes à un ou plusieurs antituberculeux (une à l'éthambutol, une à la pyrazinamide, une à la streptomycine et deux avaient une résistance combinée à la pyrazinamide et à la streptomycine). Aucun patient infecté par une souche résistante n'avait été traité auparavant, ni inclus dans un cluster.

IS6110-RFLP

Le nombre de copies d'IS6110 des souches a varié entre 5 et 13 (moyenne : 10). Cinquante-trois fragments différents de 0,8 à 14 kb ont été détectés. La combinaison de ces fragments a permis de distinguer 33 profils distincts. La mesure des distances génétiques par classification ascendante hiérarchique a permis d'obtenir un dendrogramme (Fig. 1).

Trente et une souches ont présenté des profils uniques. Huit avaient un profil identique à celui d'une ou plusieurs autres souches et ont donc été incluses dans 2 clusters : 3 dans le cluster A (patients 9, 10 et 30) et 5 dans le cluster B (patients 8, 21, 27, 28 et 35)

Figure 1. Dendrogramme obtenu par classification hiérarchique ascendante des résultats de l'IS6110-RFLP.



Enquêtes dans le cadre du dépistage autour d'un cas

Pendant la période d'étude, 13 enquêtes de dépistage ont été effectuées.

- Six ont concerné des patients présentant un profil IS6110-RFLP unique.
- 3 dépistages ont été effectués dans des maisons de retraite et ont entraîné la pratique de radiographies pulmonaires à l'ensemble des pensionnaires. L'ensemble des dépistages s'est révélé négatif.
- Deux patients fréquentaient régulièrement le foyer d'hébergement municipal et un dépistage par radiographie pulmonaire a été réalisé à 2 occasions pour les personnes présentes. Les 2 dépistages se sont révélés négatifs.
- Un dépistage a été effectué à la demande du médecin traitant, à la mère d'un patient ; la radiographie pulmonaire était normale.
- Sept dépistages ont concerné des patients inclus dans des clusters.
- Dans le cluster A, pour les patients 10 et 30, une enquête a été effectuée et des radiographies pulmonaires pratiquées dans l'entourage et la famille, sans découverte de tuberculose. En ce qui concerne le patient 9, propriétaire d'un bar, il était très bacillifère et était décédé sept jours après le diagnostic. L'IDR à la tuberculine avait été pratiquée pour les membres de sa famille et était positive pour 4 d'entre eux (l'épouse et ses 3 enfants). Les radiographies pulmonaires n'avaient pas été pratiquées. Le résultat de l'IDR à la tuberculine et la forte contagiosité du patient avaient justifié l'instauration immédiate d'un traitement antituberculeux. Les radiographies pulmonaires de contrôle pratiquées à 3 mois se sont révélées normales. Il est à noter qu'une infirmière s'est déplacée à 3 reprises dans le bar concerné afin de proposer un dépistage aux clients mais aucun ne s'est présenté. Aucun lien épidémiologique entre les 3 patients de ce cluster n'a été établi.
- Dans le cluster B, 3 patients étaient connus comme sans domicile fixe et prenaient des repas au foyer d'hébergement municipal. À chaque découverte d'un cas chez une personne fréquentant ce foyer, un dépistage d'éventuels cas secondaires avait été pratiqué par radiographie pulmonaire sur les personnes présentes dans ce but. Aucun nouveau cas n'avait été détecté à chaque dépistage.
- Pour le patient 35, un dépistage chez la mère a été pratiqué par radiographie pulmonaire, qui s'est avérée sans anomalie.

Investigation des clusters à la suite des résultats du typage moléculaire

Cluster A (patients 9, 10, 30)

L'analyse des questionnaires puis la mise en relation avec le médecin traitant a permis d'obtenir des informations complémentaires. Pour les patients 10 et 30, le diagnostic de tuberculose pulmonaire a été posé en juillet et août 1995 respectivement. Les deux patients souffraient d'alcoolisme et fréquentaient le même bar. Pour le troisième malade (patient 9), le diagnostic de tuberculose pulmonaire avait été posé en mars 1996. Ce malade était le propriétaire du bar fréquenté régulièrement par les patients 9 et 10. Le bar a donc été identifié comme site de contact entre ces 3 patients. De plus, quand les résultats du typage moléculaire ont indiqué un lien entre ces trois malades, le médecin traitant d'un des malades a révélé que 4 personnes vivant dans le même quartier et clients occasionnels du bar auraient présenté une TB dans l'année précédant la période d'étude.

Cluster B (patients 8, 21, 27, 28, 35)

Quatre patients souffraient d'alcoolisme (8, 21, 27, 28) et 3 d'entre eux étaient connus comme sans domicile fixe et fréquentaient régulièrement le foyer d'hébergement municipal. Pour ces 4 patients, les sites de contact présumés étaient ce foyer d'hébergement et les lieux de consommation d'alcool.

En revanche, aucun lien épidémiologique n'a été établi entre ces 4 patients et le patient 35.

Facteurs de risque d'inclusion dans un cluster

Les caractéristiques épidémiologiques des malades inclus dans les clusters et de celles des patients dont les souches présen-

taient un profil unique ont été comparées (Tab. 2). Les facteurs de risque d'inclusion dans un cluster étaient le sexe masculin, les personnes sans domicile fixe et l'alcoolisme.

Tableau 2. Comparaison des caractéristiques épidémiologiques entre les patients présentant un profil unique et ceux inclus dans un groupe.

| Caractéristiques | Patients inclus dans un groupe (n = 8) | Patients présentant un profil unique (n = 31) | p |
|-----------------------------------|--|---|---------|
| Sexe masculin | 8 | 17 | 0.03 |
| Age moyen | 49,6 | 62,2 | NS |
| Né à l'étranger | 0 | 1 | NS |
| Sans domicile fixe | 3 | 2 | < 0,05 |
| Résidence en maison de retraite | 0 | 6 | NS |
| Alcoolisme | 7 | 2 | < 0,001 |
| Absence de vaccination par le BCG | 0 | 3 | NS |
| TB pulmonaire | 7 | 27 | NS |
| Examen direct positif | 4 | 13 | NS |
| Antécédents connus de TB | 2 | 2 | NS |
| Décès | 1 | 0 | NS |

NS : Non Significatif.

DISCUSSION

Du 1^{er} septembre 1995 au 31 août 1996, toutes les souches isolées de patients vivant au sein de la CUB ont été collectées. L'incidence de la tuberculose est évaluée à 18,7 pour 100 000 habitants, ce qui est plus élevée que l'incidence connue pour la région Bretagne dans la même période (13,4). Ce fait peut être expliqué par le milieu urbain cadrant notre étude, par la sous déclaration des cas de tuberculose en France ainsi que par l'exhaustivité des souches collectées. Aucun cas de tuberculose multirésistante n'a été détecté.

Les souches isolées au sein de la CUB comprennent de 5 à 13 copies d'IS6110, ce qui est en accord avec les études réalisées dans les pays européens [3]. Aucune souche avec un nombre inférieur à 5 copies n'a été détectée, contrairement à certaines souches isolées dans d'autres pays [4], pour lesquelles le typage moléculaire fait appel à d'autres méthodes plus discriminantes. Ceci peut être dû au faible nombre de personnes nées à l'étranger dans notre étude.

Il est habituellement admis que les patients présentant un profil identique par IS6110-RFLP sont susceptibles d'avoir été infectés récemment [5]. Cependant, une étude menée dans une région à population géographiquement stable a montré que le fait de regrouper des souches au sein d'un cluster n'était pas systématiquement le signe d'une infection récente, mais pouvait être témoin d'une infection acquise dans le passé [6].

Dans notre étude, 7 des 8 liens suggérés par le typage moléculaire ont été rétrospectivement confirmés par l'investigation épidémiologique. Le fait d'être inclus dans un cluster témoigne certainement d'une transmission récente. L'ampleur de cette transmission est d'ailleurs probablement sous-estimée, du fait des 4 consommateurs du bar qui auraient présenté une tuberculose l'année précédant notre étude. Ce haut pourcentage de confirmation des connections épidémiologiques contraste avec d'autres études, dans lesquelles moins de 10 % des liens suggérés par le typage moléculaire sont confirmés par l'enquête conventionnelle [7].

La stabilité de la population de la CUB a probablement facilité l'enquête épidémiologique. Le fait que les patients présentent des caractéristiques socio-économiques particulières a aussi contribué à l'identification des liens épidémiologiques (SDF, alcoolisme). Un bar et un foyer d'hébergement ont été identifiés comme lieu à haut risque pour la transmission de la tuberculose, ce qui est en accord avec des études antérieures [8, 9].

Pour les patients du cluster B, la pratique de radiographies pulmonaires au foyer d'hébergement a été effectuée à chaque nouveau cas de tuberculose, sans détection de cas secondaire. Ceci peut être expliqué par la mobilité de la population, les radiographies étant pratiquées en une fois sur les personnes présentes ce jour là. L'IDR à la tuberculine n'a pas été pratiquée, compte-tenu de la situation sociale des sujets. Une prévention systématique devrait être effectuée pour cette population, mobile et donc fréquemment absente lors des dépistages [10].

De même, l'enquête menée pour les patients du cluster A n'a pas permis de mettre en évidence des liens épidémiologiques entre eux, malgré l'existence d'un facteur de risque connu, l'alcoolisme. C'est seulement après les résultats du typage moléculaire que le lien entre ces patients a été mis en évidence.

En revanche, dans les maisons de retraite, cibles par 3 fois de dépistage comportant la pratique d'un nombre important de radiographies pulmonaires, aucune transmission de tuberculose n'a été mise en évidence.

Deux sites de contact et des facteurs de risque de transmission active non détectés par les méthodes épidémiologiques conventionnelles ont été identifiés grâce au typage moléculaire. Ce dernier en complément de l'épidémiologie conventionnelle a donc permis d'obtenir de précieuses informations sur la transmission de la tuberculose au sein de la CUB. Cette stratégie peut donc conduire au repérage de situations épidémiologiques à risque.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] B. Miller, C. Schieffelbein – Tuberculosis – Bull World Health Organ 1998 ; 76 : 141-3.
- [2] J.D. Van Embden, M.D. Cave, J.T. Crawford *et al.* – Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology – J Clin Microbiol 1993 ; 31 : 406-9.
- [3] M.C. Gutiérrez, V. Vincent, D. Aubert *et al.* – Molecular fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* and risk factors for tuberculosis transmission in Paris, France, and surrounding area – J Clin Microbiol 1998 ; 36 : 486-92.
- [4] L.K. Yuen, B.C. Ross, K.M. Jackson *et al.* – Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains from Vietnamese patients by Southern blot hybridization – J Clin Microbiol 1993 ; 31 : 1615-8.
- [5] P.M. Small, P.C. Hopewell, S.P. Singh *et al.* – The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods – N Engl J Med 1994 ; 330 : 1703-9.
- [6] C.R. Braden, G.L. Templeton, M.D. Cave *et al.* – Interpretation of restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a state with a large rural population – J Infect Dis 1997 ; 175 : 1446-52.
- [7] D. Alland, G.E. Kalkut, A.R. Moss *et al.* – Transmission of tuberculosis in New York City. An analysis by DNA fingerprinting and conventional epidemiologic methods – N Engl J Med 1994 ; 330 : 1710-6.
- [8] B. Dwyer, K. Jackson, K. Raio *et al.* – DNA restriction fragment analysis to define an extended cluster of tuberculosis in homeless men and their associates – J Infect Dis 1993 ; 167 : 490-4.
- [9] A. Genewein, A. Telenti, C. Bernasconi *et al.* – Molecular approach to identifying route of transmission of tuberculosis in the community – Lancet 1993 ; 342 : 841-4.
- [10] S. Asch, B. Leake, L. Knowles *et al.* – Tuberculosis in homeless patients: potential for case finding in public emergency departments – Ann Emerg Med 1998 ; 32 : 144-7.