

EPIDEMIOLOGIE DE LA RESISTANCE AUX ANTITUBERCULEUX DES SOUCHES DU COMPLEXE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLEES D'ADENOPATHIES A DJIBOUTI ETUDE PROSPECTIVE REALISEE EN 1999

J-L. KOECK, J.J. BERNATAS, P. GEROME, M. FABRE, A. HOUMED, V. HERVE, R. TEYSSOU

Med Trop 2002; **62** : 70-72

RESUME • La tuberculose est une cause majeure de mortalité à Djibouti, les formes ganglionnaires représentant environ 25 % des formes cliniques. Au cours d'une enquête prospective réalisée de janvier à mars 1999, 196 adénopathies ont été prélevées chez 153 patients résidant à Djibouti. La résistance aux antituberculeux était déterminée par la méthode des proportions. Une souche du complexe *Mycobacterium tuberculosis* était isolée pour 85 patients (*Mycobacterium tuberculosis* : 78 ; *Mycobacterium canetti* : 3 ; *Mycobacterium africanum* : 3 ; *Mycobacterium bovis* : 1), parmi lesquels 9 étaient préalablement traités. La séroprévalence VIH des patients tuberculeux était de 15 %. Les résultats de la résistance initiale étaient les suivants : taux global (un ou plusieurs antituberculeux) : 18 (21,2 %) ; isoniazide (H) : 6 (7,1 %) ; rifampicine (R) : 3 (3,5 %) ; éthambutol (E) : 1 (1,2 %) ; streptomycine (S) : 13 (15,3 %) ; pyrazinamide (Z) : 1 (1,2 %) ; multirésistance : 2 (2,4 %). Concernant la résistance acquise, les résultats étaient les suivants : H : 3 (33 %) ; R : 2 (22 %) ; S : 2 (22 %) ; E : 0 ; Z : 0 ; multirésistance : 1 (11 %). Les taux de résistance observés ne différaient pas significativement de ceux obtenus pour les prélèvements respiratoires analysés entre 1997 et 2000, ni de ceux décrits dans une étude réalisée en 1985.

MOTS-CLES • *Mycobacterium tuberculosis* - Adénopathies tuberculeuses - Traitement antituberculeux - Djibouti.

PREVALENCE OF RESISTANCE TO ANTI-TUBERCULOSIS DRUGS IN MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX STRAINS ISOLATED FROM LYMPH NODES IN DJIBOUTI. A PROSPECTIVE STUDY CONDUCTED IN 1999.

ABSTRACT • Tuberculosis is a major cause of death in the Republic of Djibouti. Tuberculous lymphadenitis represents about 25 % of the clinical forms of tuberculosis in this country. Between January 1999 and April 1999, 196 lymph node specimens were consecutively collected from 153 patients living in Djibouti. Testing of susceptibility to the major anti-tuberculosis drugs was performed by the proportion method. Growth of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains was obtained from specimens of 85 patients including 9 with prior treatment. Strains were identified as *Mycobacterium tuberculosis* in 78 cases, *Mycobacterium canetti* in 3, *Mycobacterium africanum* in 3, and *Mycobacterium bovis* in 1. Prevalence of HIV infection was 15 %. Assessment of primary resistance demonstrated that the overall resistance rate, i.e., resistance to 1 or more drugs, was 18 (21.2%). Results showed resistance to isoniazid (H) in 6 cases (7.1%), rifampicin (R) in 3 (3.5%), ethambutol (E) in 1 (1.2%), streptomycin (S) in 13 (15.3%) and pyrazinamide (Z) in 1 (1.2%). Multidrug resistance (MDR) was found in 2 cases (2.4%). Assessment of acquired resistance demonstrated resistance to H in 4 cases (44%), R in 2 (22%), S in 2 (22%), E in 0, Z in 0 and MDR in 1 (11%). These findings were not significantly different from data obtained from sputum samples analysed between 1997 and 2000 or from those described in a study conducted in 1985.

KEY WORDS • *Mycobacterium tuberculosis* - Tuberculous lymphadenitis - Anti-tuberculosis drugs - Djibouti.

• Travail du Laboratoire de biologie clinique de l'HIA Val de Grâce à Paris (J-L.K., Spécialiste du SSA ; R.T., Professeur agrégé du SSA), du centre de lutte antituberculeuse Paul Faure à Djibouti (J-J.B., Médecin épidémiologiste, A.H., Pneumologue), du laboratoire de biologie clinique de l'HIA Desgenettes à Lyon (P.G., Spécialiste du SSA), et du laboratoire de biologie clinique de l'HIA Percy à Clamart (M.F., Technicien de laboratoire, V.H., Chef de service).

• Correspondance : J.L. KOECK, adjoint au chef de service, laboratoire de biologie clinique, HIA du Val de Grâce, 74, boulevard de Port-Royal, 75230 Paris cedex 05 • Fax : +33 (0) 1 40 51 42 98 • e-mail : jlkoECK@filnet.fr

• Article reçu le 26/04/2001, définitivement accepté le 9/01/2002.

La tuberculose constitue une cause majeure de mortalité d'origine infectieuse à Djibouti. De plus, les tuberculoses ganglionnaires représentent environ 25 % des formes cliniques dans ce pays, où un protocole thérapeutique de durée réduite leur est spécifiquement appliqué. Il s'agit de l'association rifampicine (R), isoniazide (H) et pyrazinamide (Z) pendant 2 mois puis de l'association R et H pendant les 2 mois suivants. En cas d'échec, le traitement associe éthambutol (E), R, H et Z pendant 2 mois puis E, R et H pendant 4 mois. Afin de valider ce schéma thérapeutique, nous avons réalisé une étude épidémiologique de la résistance aux anti-

tuberculeux (résistance initiale et acquise) des souches isolées d'adénopathies tuberculeuses.

PATIENTS ET METHODES

Patients.

Tout patient consultant au centre de lutte antituberculeuse Paul Faure à Djibouti de janvier à avril 1999, et présentant une ou plusieurs adénopathies, quelle que soit leur durée d'évolution, était inclus dans l'étude. Pour chaque cas, un formulaire était complété afin de connaître les antécédents éventuels de tuberculose et de traitement antituberculeux ; un dépistage sérologique de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) était systématiquement réalisé.

Méthodes.

Une ponction ganglionnaire était effectuée à l'aide d'une aiguille de 1,5 mm de diamètre. Le prélèvement obtenu était transporté en France, par voie aérienne, dans un délai inférieur à 48 h. Les analyses étaient effectuées au laboratoire de biologie clinique de l'HIA Percy.

Les échantillons étaient décontaminés par la méthode à la N-acétyl-L-cystéine-soude avant d'être ensemencés sur milieux de Löwenstein-Jensen (LJ), de Coletos et sur le milieu liquide *Mycobacterial Growth Indicator Tube* (MGIT, Becton Dickinson). Un test d'amplification génique était effectué directement à partir de chaque prélèvement (*Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test*, Gen-Probe). Les mycobactéries étaient identifiées par l'utilisation de tests biochimiques standards, de sondes géniques *AccuProbe* (Gen-Probe) et par *spoligotyping* (technique permettant la différenciation de certaines sous-espèces du complexe *Mycobacterium tuberculosis* effectuée à l'Institut Pasteur de Paris).

La détermination de la sensibilité aux antituberculeux a été réalisée par la méthode indirecte des proportions en milieu LJ (1). Les concentrations des antituberculeux majeurs étudiés étaient les suivantes : H : 0,2 g/l ; E : 2 g/l ; R : 40 g/l ; streptomycine (S) : 4 g/l ; Z : 200 g/l. La résistance était définie par une croissance supérieure à un pour cent par rapport au milieu témoin (H, R, E et S) ou 10 % par rapport au milieu témoin (Z).

La résistance était dite acquise si le patient avait déjà été traité par une combinaison d'antituberculeux pendant au moins un mois. Dans le cas contraire, il s'agissait d'une résistance initiale.

RESULTATS ET DISCUSSION

Cent quatre-vingt-seize prélèvements ganglionnaires ont été effectués chez 159 patients. Une mycobactérie du complexe *Mycobacterium tuberculosis* était isolée chez 85 d'entre eux (*Mycobacterium tuberculosis* : 78 ; *Mycobacterium africanum* : 3 ; *Mycobacterium canettii* : 3 ; *Mycobacterium bovis* : 1). La séroprévalence de l'infection par le VIH était de 15 % chez ces patients.

Des arguments cliniques, les résultats de l'intradermoréaction à la tuberculine, du test d'amplification génique et de la radiographie thoracique, ainsi que la réponse thérapeutique au traitement antituberculeux, ont permis d'évaluer la proportion de patients présumés tuberculeux avec une culture ganglionnaire négative pour *Mycobacterium tuberculosis*

Tableau I : Phénotypes de résistance aux antituberculeux des 85 souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis* isolées.

| Profil de Résistance * | Globale (n = 85) | Initiale (n = 76) | Acquise (n = 9) |
|------------------------|------------------|-------------------|-----------------|
| H | 3 (3,5 %) | 2 (2,6 %) | 1 (11 %) |
| R | 1 (1,2 %) | 0 | 1 (11 %) |
| E | 0 | 0 | 0 |
| Z | 1 (1,2 %) | 1 (1,3 %) | 0 |
| S | 10 (11,8 %) | 9 (11,8 %) | 1 (11 %) |
| HS | 1 (1,2 %) | 1 | 0 |
| HRS | 1 (1,2 %) | 0 | 1 (11 %) |
| HRSE | 1 (1,2 %) | 1 (1,3 %) | 0 |

* H : isoniazide ; R : rifampicine ; S : streptomycine ; E : éthambutol ; Z : pyrazinamide.

à 13 % (9 patients parmi lesquels 3 avaient un antécédent récent de traitement antituberculeux). Le rendement de la culture peut être considéré comme satisfaisant (90,4 %). Les faux négatifs peuvent être expliqués par le caractère paucibacillaire des prélèvements obtenus par ponction à l'aiguille fine des adénopathies ou par l'action du traitement antituberculeux. Il est difficile de préjuger du phénotype de résistance des bactéries non isolées, car nous manquons d'informations pour comparer les évolutions cliniques sous traitement des patients selon l'isolement ou non de *Mycobacterium tuberculosis*. Les données obtenues ne permettent donc pas la mise en évidence d'une relation entre la difficulté de croissance des souches de *Mycobacterium tuberculosis* et leur caractère multirésistant aux antibiotiques.

Les profils de résistance aux antituberculeux sont présentés dans le Tableau I. Il s'agissait d'une résistance initiale dans 89,4 % des cas. Le taux de résistance globale à au moins un antituberculeux était de 21,2 %. Seuls deux patients étaient infectés par une souche multirésistante (2,4 %).

Il n'existait pas d'augmentation significative de la fréquence de la résistance initiale aux antituberculeux, par rapport à une enquête réalisée en 1985 par Auregan et Coll. (2). Dans cette étude, sur 136 prélèvements de sites divers, 16 % des isolats étaient résistants à au moins un antituberculeux, 13,2 % à H et 8,8 % à S.

Par ailleurs, il n'existait pas de différence significative entre nos résultats et les pourcentages de résistance aux antituberculeux de 83 souches isolées de prélèvements respiratoires obtenus chez des patients hospitalisés au CHA Bouffard entre 1997 et 2000 (1 drogue : 24 % ; H : 9,6 % ; R : 2,4 % ; E : 2,4 % ; Z : 0 % ; S : 18 % ; multirésistance : 2,4 %) (données non publiées).

Le taux de résistance à au moins un antituberculeux chez les patients infectés par le VIH (27 %) n'était pas significativement différent de celui observé chez les patients séro-négatifs (22,5 %).

Quelques études épidémiologiques concernant la résistance aux antituberculeux ont été réalisées sur le continent africain. Même si les différentes techniques utilisées et l'hétérogénéité des populations ne permettent pas une comparaison fiable des résultats, il apparaît, dans toutes les enquêtes, que la plupart des résistances observées sont des

Tableau II - Prévalence des résistances initiale et acquise aux antituberculeux des souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis* dans plusieurs pays africains.

| Pays | Réf. | Année | R. initiale * | | R. secondaire * |
|----------------|-------------|-----------|---------------|-----------|-----------------|
| | | | I (%) † | MDR (%) ‡ | MDR (%) |
| Djibouti | Cette étude | 1999 | 18,4 | 1,3 | 11 |
| Maroc | 3 | 1992-1994 | 23,9 | < 1 | - |
| Ethiopie | 4 | 1994-1995 | 32,5 | < 1 | 3,5 |
| Tanzanie | 5 | 1991-1993 | 4,6 | 0,4 | - |
| Rwanda | 6 | 1991-1993 | - | 1,3 | 14,5 |
| Kenya | 7 | 1981-1990 | 6,3 | 0 | - |
| Ouganda | 8 | 1996-1997 | - | 0,5 | 4,4 |
| Cameroun | 9 | 1994-1995 | 31,8 | 0,8 | 26,7 |
| Côte d'Ivoire | 10 | 1995-1996 | 13,4 | 5,3 | - |
| Bénin | 11 | 1994-1995 | 8,4 | 0,3 | 11 |
| Afrique du Sud | 12 | 1995 | 9 | 0,3 | 18,1 |

* R. : résistance ; † : I : résistance initiale à au moins un antituberculeux ; ‡ : MDR : résistance à l'isoniazide et à la rifampicine.

résistances secondaires et que la fréquence des multirésistances initiales n'excèdent pas 6 % dans la majorité des pays africains (Tableau II). Nos propres résultats concordent avec ces données et n'apportent pas d'argument pour modifier le schéma thérapeutique utilisé actuellement en République de Djibouti.

CONCLUSION

La fréquence des résistances aux antituberculeux observée à Djibouti est comparable à celle observée dans d'autres pays africains. La prévalence des souches du complexe *Mycobacterium tuberculosis* multirésistantes ne remet pas en cause les schémas thérapeutiques actuellement utilisés. Cependant, l'instabilité régionale favorise les flux migratoires de populations démunies et la diffusion de souches multirésistantes. Le maintien d'une structure organisée de lutte contre la tuberculose à Djibouti est donc indispensable au contrôle de la résistance aux antituberculeux.

REFERENCES

- 1 - CANETTI G, RIST N, GROSSET J Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Rev Tuberc Pneumol* 1963 ; **27** : 217-272.
- 2 - AUREGAN G, BICHAT B, CHAKIB S et Coll. - Les mycobactéries rencontrées à Djibouti. *Med Trop* 1988 ; **48** : 107-110.
- 3 - EL BAGHDADI J, LAZRAQ R, IBRAHIMY S et Coll. - Survey of primary drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Casablanca, Morocco. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997 ; **1** : 309-313.
- 4 - MITIKE G, KEBEDE D, YENENEH H - Prevalence of antituberculosis drug resistance in Harar Tuberculosis Centre, Ethiopia. *East Afr Med J* 1997 ; **74** : 158-161.
- 5 - CHUM HJ, O'BRIEN RJ, CHONDE TM et Coll. - An epidemiological study of tuberculosis and HIV infection in Tanzania, 1991-1993. *AIDS* 1996 ; **10** : 299-309.
- 6 - CARPELS G, FISSETTE K, LIMBANA et Coll. - Drug resistant tuberculosis in sub-Saharan Africa: an estimation of incidence and cost for the year 2000. *Tuberc Lung Dis* 1995 ; **76** : 480-486.
- 7 - GITHUI WA, KWAMANGA D, CHAKAYA JM et Coll. - Anti-tuberculous initial drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Kenya : a ten-year review. *East Afr Med J* 1993 ; **70** : 609-612.
- 8 - BRETZEL G, AZIZ M, WENDL-RICHTER U et Coll. - Anti-tuberculosis drug resistance surveillance in Uganda 1996-1997. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999 ; **3** : 810-815.
- 9 - BERCION R, KUABAN C - Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex to the main antibacillary agents in Yaounde, Cameroon. *Bull Soc Pathol Exot* 1998 ; **91** : 199-202.
- 10 - DOSSO M, BONARD D, MSELLATI P et Coll. - Ivoirien Study Group on Tuberculosis Resistance. Primary resistance to antituberculosis drugs: a national survey conducted in Cote d'Ivoire in 1995-1996. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999 ; **3** : 805-809.
- 11 - TREBUCQ A, ANAGONOU S, GNINAFON M et Coll. - Prevalence of primary and acquired resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to antituberculosis drugs in Benin after 12 years of short-course chemotherapy. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999 ; **3** : 466-470.
- 12 - MURRAY J, SONNENBERG P, SHEARER S et Coll. - Drug-resistant pulmonary tuberculosis in a cohort of southern African goldminers with a high prevalence of HIV infection. *S Afr Med J* 2000 ; **90** : 381-386.