



ENQUÊTE

SURVEILLANCE DE LA RÉSISTANCE À LA CLARITHROMYCINE ET À LA RIFABUTINE DES SOUCHES DE MYCOBACTÉRIES DU COMPLEXE AVIAIRE (MAC) ISOLÉES D'HÉMOCULTURES AU COURS DU SIDA

J. Maugein¹, B. Carbonnelle², F. Doucet-Populaire³, J. Grosset³ et le Groupe AZAY Mycobactéries⁴

INTRODUCTION

Avant l'introduction des antiprotéases dans le traitement de l'infection à VIH, les infections généralisées à mycobactéries du complexe aviaire (MAC) étaient fréquentes chez les sujets séropositifs pour le VIH lorsque leur taux de lymphocytes CD4 tombait au-dessous de 50/mm³. Leur traitement préventif et curatif augmentait significativement le confort et la survie des malades, notamment lorsqu'il comportait la clarithromycine associée ou non à la rifabutine [1]. Chez les malades porteurs d'une large population bactérienne [2], il induisait fréquemment la résistance à la clarithromycine lorsque cet antibiotique était prescrit en monothérapie ou en association avec des antibiotiques inactifs ou peu actifs sur MAC. Pour apprécier la fréquence de la résistance secondaire et celle de la résistance primaire de MAC à la clarithromycine et à la rifabutine, un réseau de surveillance a été organisé par 11 laboratoires de bactériologie hospitalo-universitaires (Angers, Bordeaux, Clamart, Créteil, Lille, Nancy, Nantes, Poitiers, Pitié-Salpêtrière et Saint-Antoine à Paris, Toulouse) et le laboratoire des mycobactéries de l'Institut Pasteur. Ces laboratoires ont répertorié et testé de façon systématique durant les années 1995, 1996 et 1997 la résistance à la clarithromycine et à la rifabutine de toutes les souches isolées d'hémoculture de malades séropositifs pour le VIH. A l'exception des deux laboratoires de Paris et du laboratoire des mycobactéries de l'Institut Pasteur, ils centralisaient les souches de MAC isolées par hémoculture dans leur ville et dans leur région.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Durant les années 1995, 1996 et 1997, toutes les souches de mycobactéries du complexe aviaire isolées d'hémoculture chez les malades séropositifs pour le VIH ont été identifiées dans les 12 laboratoires participant au réseau de surveillance soit par méthode classique (caractères cultureux et biochimiques) soit par hybridation génique (Accuprobe, Gen-Probe). Pour chaque malade, la sensibilité à la clarithromycine et à la rifabutine de toutes les souches isolées à plus d'un mois d'intervalle a été éprouvée, mais pour cette étude nous avons retenu les résultats de la première souche isolée, et soit, la première souche résistante à la clarithromycine, soit la dernière souche isolée si celle-ci était restée sensible à la clarithromycine. De plus, le biologiste devait préciser pour chaque malade le nombre de souches isolées, la date d'isolement, et la nature, la dose et la date de prescription du ou des antibiotiques que les malades avaient reçu à titre préventif ou curatif de l'infection à MAC.

La sensibilité des souches de MAC à la clarithromycine et à la rifabutine a été mesurée par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Les solutions mères d'antibiotiques ont été préparées à partir des poudres titrées fournies par les laboratoires Abbott pour la clarithromycine et Pharmacia pour la rifabutine. Différents milieux de culture ont été utilisés selon les laboratoires. Pour la clarithromycine, cinq laboratoires ont utilisé la méthode radiométrique (Bactec 460 TB) et le milieu liquide 7H12 ramené à

pH 7,2 par l'adjonction de 0,12 ml de Na₂HPO₄ par flacon, tandis que les sept autres ont utilisé la technique des dilutions en milieu gélosé de Mueller Hinton supplémenté en OADC. Pour la rifabutine, cinq laboratoires ont utilisé la méthode Bactec et le milieu liquide 7H12, six le milieu de culture gélosé (Difco)7H11 supplémenté en OADC et le dernier, le milieu de Löwenstein-Jensen. Quelle que soit la technique utilisée, la CMI de la clarithromycine et de la rifabutine a été définie comme la plus faible concentration inhibant la croissance de 99% de l'inoculum. Les souches de MAC pour lesquelles la CMI de la clarithromycine a été inférieure ou égale à 4 mg/l ont été considérées comme sensibles et celles pour lesquelles la CMI a été supérieure à 4 mg/l comme résistantes.

RÉSULTATS

Au cours de ces trois années 1995 à 1997, 606 souches ont été incluses dans cette étude. La répartition par année est donnée dans le *tableau 1*. Les souches isolées de malades qui n'avaient jamais été traités par la clarithromycine ont été séparées de celles qui ont été isolées de malades traités c'est-à-dire, recevant de la clarithromycine soit préventivement soit pour une infection antérieure documentée.

Tableau 1. Répartition par année de 1995 à 1997 des souches de mycobactéries du complexe aviaire (MAC) isolées selon que le malade avait été ou non traité auparavant

Les chiffres entre parenthèses correspondent au nombre de souches résistantes à la clarithromycine

Souches isolées	1995	1996	1997	Total
Non traités	361	188	57	606
Déjà traités	261 (2)	157	38 (1)	456 (3)
Total	100 (72)	31 (20)	19 (12)	150 (105)

Pour la clarithromycine, on constate que parmi les 606 souches testées, 501 étaient sensibles et 105 résistantes à la clarithromycine. Parmi les souches résistantes, trois ont été isolées chez des malades n'ayant jamais été traités par des macrolides, mais un avait cependant reçu de la clindamycine durant les trois mois précédant l'isolement de la souche de MAC (3). Le délai moyen d'apparition de la résistance à la clarithromycine est de 6 mois après le début du traitement avec des extrêmes allant de 2 à 15 mois. Chez les malades ayant fait l'objet d'une surveillance régulière (une hémoculture par mois) le délai moyen entre le début du traitement et l'isolement de la première souche résistante est de 4,5 mois.

Pour la rifabutine, la valeur des CMI est dépendante du milieu de culture utilisé. La CMI 90 est en effet de 0,5 mg/l en milieu liquide 7H12 (Bactec), de 1 mg/l sur milieu gélosé 7H11 et de 16 mg/l sur milieu Löwenstein-Jensen. Par conséquent, on a défini comme souches sensibles à la rifabutine celles dont la CMI était égale ou inférieure à 0,5 mg/l en 7H12, inférieure ou égale à 1 mg/l sur 7H11 et inférieure ou égale à 16 mg/l sur milieu Löwenstein-Jensen. Avant traitement, 94,2% des souches isolées ont été définies comme sensibles tandis qu'après plusieurs mois de traitement préventif ou curatif, 96,3% des souches ont été définies comme sensibles. La sensibilité de MAC à la rifabutine apparaît ainsi indépendante de l'utilisation de la rifabutine.

La notion de prophylaxie a été documentée pour 298 (65,3%) souches isolées chez les malades non traités. En 1995, 29,7% des malades recevaient une prophylaxie lors de l'isolement de la première souche, en 1996 et 1997, ces pourcentages sont respectivement de 17 et 11%. La rifabutine a été utilisée en prophylaxie dans 80% des cas, la clarithromycine dans 20% des cas.

¹Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Haut Levêque, avenue Magellan, 33604 Pessac.

²Laboratoire de Bactériologie, 4 rue Larrey, 49033 Angers.

³Centre de Référence pour la surveillance des infections à mycobactéries et de leur résistance aux antibiotiques, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75651 Paris Cedex 13.

⁴R. Bauriaud (Toulouse), A. Bourgoïn (Poitiers), E. Carpentier (Angers), M. Dailloux (Nancy), L. Deforges (Créteil), V. Lalande (Paris), L. Lebrun (Paris), P. Melchior et D. Moinard (Nantes), C. Offredo (Paris), C. Truffot-Pernot (Paris), A. Vachée (Lille), V. Vincent (Paris).

DISCUSSION ET CONCLUSION

La constatation essentielle faite par le réseau de surveillance des infections bactériémiques à MAC est la diminution de fréquence de ces infections depuis l'année 1996. Plusieurs arguments permettent de penser que la diminution observée est étroitement liée à l'introduction au cours du deuxième trimestre de l'année 1996 des antiprotéases dans le traitement des sujets HIV. En effet, 82 % des souches isolées en 1996 l'ont été dans les 7 premiers mois de l'année et la fréquence des bactériémies à MAC a encore diminué durant l'année 1997 pour n'être plus que 15% de celle observée en 1995. Ceci confirme les données récentes [4] sur le rôle des antiprotéases dans le maintien des CD4 à un taux suffisamment élevé pour empêcher la survenue de multiples infections opportunistes et peut expliquer la diminution de la prescription d'une prophylaxie que l'on observe au cours des trois années.

Dans notre étude, la fréquence de l'émergence de souches résistantes à la clarithromycine est de l'ordre de 70% avec une faible variation au cours des trois années de la surveillance. Cette fréquence est comparable à celle qui a été rapportée dans les différentes études portant sur le traitement préventif ou curatif de l'infection à MAC par la clarithromycine [2]. Mais aucune étude ne mentionne de cas de résistance primaire similaires aux trois cas de résistance à la clarithromycine que nous avons observé chez des malades n'ayant jamais reçu de clarithromycine. Pour l'un de ces trois malades qui avait été traité antérieurement par la clindamycine, antibiotique apparenté aux macrolides, on peut penser qu'il ne s'agit pas d'une résistance primaire vraie, mais pour les deux autres, aucun macrolide ou apparenté ne semble avoir été pris. De plus, l'étude du profil génomique d'une des trois souches n'a pas permis de déceler de similitude avec les souches de MAC isolées dans le même laboratoire à la même période. Enfin, le séquençage génomique des trois souches résistantes primaire a montré une mutation ponctuelle identique à celle qui est observée chez les souches avec résistance acquise.

En ce qui concerne la rifabutine, il est remarquable qu'aucune souche résistante n'ait été isolée après traitement préventif ou curatif. Cette constatation suggère que *in vivo*, contrairement à ce qui a été observé *in vitro* [5], la rifa-

butine est incapable de sélectionner des mutants résistants après prophylaxie ou traitement.

En conclusion, cette étude a permis de montrer, que contrairement à la rifabutine, l'émergence de souches de MAC résistantes à la clarithromycine est très fréquente lors du traitement et que la résistante primaire n'est pas exclue. Elle confirme la diminution significative de l'incidence des infections à MAC depuis l'introduction des antiprotéases ce qui entraîne une difficulté à mener des études, même multicentriques, et pose surtout le problème de la nécessité de maintenir ou non une prophylaxie vis-à-vis des infections opportunistes.

RÉFÉRENCES

- [1] Chaisson R.E., Benson C.A., Dube M.P., Heifets L., Korvick J.A., Elkin S., Smith J., Craft J.C., Saller F.R., and the AIDS Clinical Trials Group Protocol 157 Study Team Clarithromycine therapy for bacteremic *Mycobacterium avium* complex disease. A randomized, double-blind, dose-ranging study in patients with AIDS. *Ann Intern Med* 1994 ; 121 : 905-11.
- [2] May T., Brel F., Beuscart C. *et al.* - Comparison of combination therapy regimens for treatment of human immunodeficiency virus-infected patients with disseminated bacteremia due to *Mycobacterium avium*. *Clin Infect Dis* 1997 ; 25 : 621-9.
- [3] Goujard C., Lebrun L., Doucet-Populaire F. *et al.* - Clarithromycin-resistant *Mycobacterium avium* strain in a clarithromycin-naïve AIDS patient. *Clin Infect Dis* 1998 ; 26 : 186-7.
- [4] Cambau E., Jouan M., Jarlier V., Bricaire F. - Infections généralisées à mycobactéries du complexe *avium* chez les malades infectés par le VIH : une incidence diminuée. *La Presse Médicale*, 1997 ; 26, n°5, 513.
- [5] Wyplosz B., Lounis N., Cambau E., Truffot-Pernot C., Grosset J., Jarlier V. - *In vitro* selection of rifampicin and rifabutin-resistant mutants of *Mycobacterium avium*. 1996; 17th Annual Meeting of the European Society for Mycobacteriology. Paris 5-8 juin. OC 109.

ENQUÊTE

COUVERTURE VACCINALE ROUGEOLE-RUBÉOLE-OREILLONS EN FRANCE EN 1998 : PREMIÈRE ET DEUXIÈME DOSES

D. Antona¹, N. Guérin¹

INTRODUCTION

En France, la recommandation en termes de vaccination Rougeole-Oreillons-Rubéole est l'injection d'une première dose de vaccin à l'âge de 12 mois, et d'une deuxième dose entre 3 et 6 ans [1]. C'est à la suite de la modélisation de la rougeole réalisée par Lévy-Bruhl *et al.* [2] que l'âge de la deuxième dose a été ramené de 11-12 ans à 3-6 ans. Il nous a paru utile d'évaluer le degré de mise en œuvre de cette nouvelle recommandation de juillet 1997 en mesurant la couverture vaccinale par ces trois antigènes. Le but est de pouvoir répéter cette enquête afin de suivre l'évolution des couvertures vaccinales par une et deux doses de vaccins.

CONTEXTE

Actuellement, les évaluations de la couverture vaccinale sont faites au niveau national et pour les trois antigènes du programme à 24 mois, entre 3 et 4 ans et à six ans (SESI). Il s'agit de l'exploitation des certificats de santé du 24^e mois, des données des PMI pour la population des 3-4 ans, et d'enquêtes réalisées en milieu scolaire pour la population âgée de 6 ans. Les couvertures dans les tranches d'âge plus élevées ne sont pas disponibles à l'échelle nationale.

Les évaluations réalisées à 24 mois et 3-4 ans, qui devraient être exhaustives, portent en fait sur une proportion de la population de cette tranche d'âge de 60 % à 24 mois et de 50 % à 3-4 ans. La représentativité de ces évaluations n'a pas été étudiée. La méthode utilisée pour l'évaluation à 6 ans est plus rigoureuse, puisque l'échantillon tiré au hasard est représentatif à niveau départemental, régional et national. Tous les résultats de ces évaluations sont publiés tardivement. Les derniers résultats officiels publiés concernent 1995 [3], et les résultats 1996 et 1997 sont encore provisoires.

Aucune méthode d'évaluation ne permet actuellement de connaître le pourcentage d'enfants ayant reçu deux doses.

C'est pourquoi le CIDEF a commandité à la Sofres une enquête au sein d'un échantillon d'enfants de 0 à 15 ans, et étudié l'évolution des chiffres de vente des vaccins depuis l'instauration de cette recommandation.

MÉTHODOLOGIE DE L'ENQUÊTE

La base de sondage utilisée pour cette enquête est un échantillon permanent (METASCOPE), représentatif de la population française et constitué de 20 000 foyers, soit 53 000 individus. La représentativité de cet échantillon est assurée par la prise en compte des critères socio-démographiques suivants :

région, type d'agglomération, nombre de personnes vivant au foyer, âge et catégorie socioprofessionnelle du chef de famille. Cette base de sondage est consultée tous les mois par voie postale, et fait l'objet d'un renouvellement régulier à raison de 6 000 foyers par an, par douzième mensuel, afin d'éviter le vieillissement de la base et de remplacer mauvais répondants et perdus de vue. D'autre part, cet échantillon a été constitué de façon à pouvoir en extraire des sous échantillons nationaux représentatifs.

A partir de cette base de sondage, un sous-échantillon a été sélectionné, représentatif des foyers au sein desquels se trouve au moins un enfant âgé de moins de 16 ans. 6 490 questionnaires foyers ont ainsi été envoyés par voie postale en janvier 1998, ciblant une population de moins de 16 ans estimée à 11 000 enfants.

Il s'agit d'un questionnaire auto-administré, envoyé à raison d'un exemplaire par foyer. Il est rempli par la personne responsable de l'enfant; ce questionnaire contient en clair des demandes d'information sur le statut vaccinal de chacun des enfants de moins de 16 ans vivant au foyer, information concernant la rougeole, la rubéole et les oreillons : date d'administration, nom commercial du ou des vaccins, qualité du vaccinateur et lieu d'administration. Il précise, pour chacune des spécialités vaccinales, si les enfants ont reçu une ou deux injections. Il est accompagné d'une notice explicative détaillée ainsi que des différents modèles possibles de la page du carnet de santé à consulter afin d'optimiser la qualité des réponses. Une relance téléphonique ou écrite est faite, et les explications nécessaires sont demandées aux familles dont les questionnaires sont incomplets. L'enquête s'est déroulée sur les mois de janvier et février 1998.

RÉSULTATS

Sur 6 490 questionnaires envoyés, 4 532 ont été retournés, soit un taux de réponse de 70 %. 136 questionnaires n'ont pas pu être exploités, renvoyés vierges ou trop incohérents. Les résultats portent donc sur 4 396 foyers enquêtés, et un effectif de 7 348 enfants. La répartition des enfants par tranche d'âge de 12 mois est très homogène au sein de l'échantillon, avec un effectif médian de 459 enfants et des extrêmes allant de 419 à 493 enfants par tranche d'âge. Le sexe ratio H/F est de 1, sans différence significative par tranche d'âge (sexe ratio compris, quelque soit l'âge, entre 0,97 et 1,03).

La répartition du nombre d'enfants par foyer est la suivante :

1 enfant par foyer	: 44 %
2 enfants par foyer	: 40 %
3 enfants par foyer	: 14 %
4 enfants par foyer	: 2 %
5 enfants par foyer	: < 1 %
6 enfants par foyer	: < 1 %

¹ Centre National de Référence pour les Vaccinations, CIDEF, Paris.