



ENQUÊTE

REÇU LE

11 AOUT 1997

Centre Européen

ÉPIDÉMIOLOGIE MOLÉCULAIRE DE LA TUBERCULOSE DANS LE DÉPARTEMENT DU NORD EN 1995

A. VACHÉE⁽¹⁾, P. VINCENT⁽¹⁾, C. SAVAGE⁽¹⁾, M. CAILLAUX⁽²⁾, L. PITHOUD⁽³⁾, C. CHANGEON⁽¹⁾,
E. VÉRITÉ⁽⁴⁾, L. DE DECKER⁽³⁾, M. SIMONET⁽¹⁾

La recrudescence de la tuberculose observée au début des années 1990 fait de cette maladie infectieuse un problème préoccupant de santé publique. En effet, dans la plupart des pays industrialisés, le taux d'incidence annuel décroissait régulièrement depuis plusieurs décennies, de 5 à 7 % en moyenne par an, lorsqu'aux États-Unis, en 1985, ce déclin s'est ralenti pour faire place l'année suivante à une augmentation significative [1]. De même, en France, l'incidence des cas déclarés, qui avait régulièrement diminué de 4 % par an entre 1970 et 1988, s'est stabilisée à un taux de 16/100 000 habitants avant d'augmenter en 1992 [2]. Cette évolution épidémique est caractérisée par une redistribution de l'incidence de la tuberculose dans la population générale : la maladie frappe de façon privilégiée les sujets vivant dans les grands centres urbains, des groupes à risque (sidéens, toxicomanes, individus sans domicile fixe...) au sein desquels se développent des micro-épidémies. L'épidémie d'infection à VIH expliquerait à elle seule 30 % de l'excès de cas observé en France en 1992 [2]. L'évolution socio-économique actuelle, dans les grands centres urbains occidentaux, peut faire craindre une pérennisation de la plupart de ces facteurs. Dans ce contexte, on peut donc craindre une extension de la tuberculose et il devient nécessaire d'évaluer le risque de transmission de cette infection dans la population.

L'analyse génétique des souches de *Mycobacterium tuberculosis*, en particulier l'étude du polymorphisme de distribution de la séquence d'insertion IS 6110 [3] qui permet d'identifier les cas de transmission récente, est un nouvel outil utile pour analyser la distribution des souches. L'étude que nous avons menée avait pour but, en analysant individuellement les souches de *M. tuberculosis* à partir des laboratoires qui les isolent et les identifient, d'évaluer le risque d'extension de la tuberculose dans le département du Nord en 1995 et d'identifier les cas de transmission ainsi que les facteurs de risque associés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Population

Le département du Nord, qui comprend 6 arrondissements administratifs (Lille, Dunkerque, Douai, Valenciennes, Maubeuge et Cambrai), comptait en 1995, selon les estimations de l'INSEE, 2 531 855 habitants (445 habitants par km²). La communauté urbaine de Lille regroupait à elle seule 1 152 000 habitants. Le ratio population urbaine/population rurale était de 8,4. Dans ce département, les mouvements de population sont relativement faibles (0,8 % par an selon l'INSEE).

Souches bactériennes

Les 158 souches recueillies en 1995 sur l'ensemble du département provenaient d'une trentaine de laboratoires privés (échantillons collectés par le laboratoire d'analyses spécialisées de l'Institut Pasteur de Lille), du laboratoire du CHRU de Lille, et des laboratoires des Centres hospitaliers généraux (Tourcoing, Dunkerque, Maubeuge, Seclin, Cambrai, Fourmies et Douai).

L'isolement et l'antibiogramme des souches étaient réalisés sur milieu solide de Lowenstein-Jensen ou Coletsos. L'identification des colonies était effectuée à l'aide de la sonde *M. tuberculosis complex* Accuprobe® selon les instructions du fabricant (Gen Probe, San Diego).

Typage moléculaire

La séquence d'insertion IS 6110, élément génétique présent habituellement en de multiples copies dans le génome de cette bactérie, a été utilisée comme outil moléculaire pour typer les souches de *M. tuberculosis*. Le typage a été réalisé selon le protocole standardisé recommandé par Van Embden et coll. [4]. Après extraction, l'ADN bactérien était digéré par l'enzyme *Pvu* II. Les fragments obtenus ont été séparés par électrophorèse en gel d'agarose, transférés sur membrane de nylon puis hybridés avec la sonde IS 6110 marquée à la peroxydase. Les profils d'hybridation ainsi obtenus étaient comparés 2 à 2 à l'aide du logiciel Gel Compar® (Applied Math, Courtrai) ainsi que par lecture visuelle. Les distances entre 2 profils ont été calculées selon l'indice de Dice et le dendrogramme a été ensuite construit en utilisant l'algorithme UPGMA (*Unweighted Pair Group Method of Analysis*). 2 profils d'hybridation ont été considérés comme identiques (seuil de tolérance : 2,5 %) même s'ils différaient d'une seule bande.

Collecte des informations

Les informations démographiques recueillies comprenaient l'âge, le sexe, le pays de naissance et la ville de résidence des malades au moment du diagnostic. Les données relatives à la tuberculose étaient également notées : date de diagnostic et forme clinique de la maladie, résultat de l'examen microscopique des produits pathologiques et statut sérologique vis-à-vis du VIH.

Analyse statistique

La distribution des données dans les différents groupes était comparée par les tests du Chi-2, de Fischer exact ou de Student selon la variable considérée.

RÉSULTATS

Patients

Les patients atteints de tuberculose étaient majoritairement des hommes (73 %). L'âge des patients allait de 6 mois à 92,5 ans (âge moyen : 53,9 +/- 19 ans) et la distribution des cas en fonction de l'âge était indépendante du sexe des patients. 39 % des malades étaient âgés de plus de 60 ans. Les étrangers atteints de tuberculose représentaient 23,2 % des patients et étaient originaires essentiellement du Maghreb (10,5 % de l'ensemble des patients) et d'Afrique subsaharienne (5,2 %). Dans cette population, les patients étaient en moyenne plus jeunes : 43 % avaient entre 20 et 40 ans (contre 22 % chez les sujets nés en France).

(1) Laboratoire de bactériologie-hygiène, CHRU de Lille.

(2) Laboratoire de bactériologie, CHG de Tourcoing.

(3) Laboratoire d'analyses spécialisées, Institut Pasteur de Lille.

(4) Service des politiques de Santé, DDASS du Nord.

La tuberculose pulmonaire isolée représentait la forme clinique prédominante (79 % des cas) et l'examen microscopique des échantillons pulmonaires était positif dans 60,6 % des cas. Le statut sérologique vis-à-vis du VIH était connu dans 51,6 % des cas et 6 patients (7,4 % de l'ensemble) étaient séropositifs. Dans la majorité des cas (94 %), les patients étaient infectés par des souches sensibles à l'ensemble des antituberculeux majeurs; 2 souches (1,2 %) étaient résistantes à la fois à la rifampicine et à l'isoniazide et 8 souches (5 %) étaient résistantes à l'isoniazide seul.

Par rapport aux données nationales issues de la déclaration obligatoire (DO) [5], les patients atteints de tuberculose étaient plus âgés (> 60 ans, 39 % contre 30 %; $p = 0,017$) et les patients séropositifs connus étaient significativement moins nombreux (7,4 % contre 23 %; $p < 0,01$)

Hétérogénéité génétique des souches

Parmi les 158 souches recueillies, 154 ont été typées. 140 profils d'hybridation distincts ont été identifiés : 126 (82 %) étaient uniques et 14 étaient retrouvés 2 fois correspondant à 28 patients (18 %). Le nombre de copies d'IS 6110 par souche s'échelonnait de 1 à 17 (moyenne = 10 ± 5). Les patients d'origine étrangère étaient plus souvent infectés par des souches contenant moins de 6 copies de l'élément IS 6110 ou au contraire plus de 15 copies (23 % contre 6 % pour les souches isolées de patients français, $p < 0,05$). 3 souches présentaient une seule copie d'IS 6110, localisée sur un fragment de restriction de taille différente (différence suffisante pour distinguer les souches).

Aucune transmission nosocomiale ou familiale n'a été mise en évidence par typage moléculaire. De même, aucun lien n'a pu être démontré entre les 10 souches résistantes aux antituberculeux majeurs.

Facteurs de risque associés aux foyers de transmission

Afin de déterminer les facteurs de risque potentiellement associés à un risque de transmission, nous avons comparé les caractéristiques des 28 patients dont les profils d'hybridation des souches sont retrouvés deux fois (et donc considérés comme récemment infectés) avec ceux des 126 patients dont les souches ont un profil d'hybridation unique. Aucun facteur de risque associé à la transmission n'a été mis en évidence (tabl. 1).

Tableau 1. – Comparaison des caractéristiques des 28 patients dont les profils d'hybridation des souches sont retrouvés 2 fois, avec ceux des 126 patients dont les souches ont un profil d'hybridation unique

Facteurs de risque	Profil unique (126 patients)	Profil partagé (28 patients)	p
Homme	74 %	70 %	NS
Moyenne d'âge (années).....	53,2 +/- 20	53 +/- 19,3	NS
Nationalité étrangère	25,5 %	25 %	NS
VIH positif.....	5,6 %	12,5 %	NS
Résident arrondissement de Lille	48 %	50 %	NS

NS : non significatif.

DISCUSSION

L'objectif de cette étude était d'évaluer le risque d'extension de la tuberculose dans le département du Nord sur la base d'un recueil systématique des souches isolées en 1995 dans les différents laboratoires participant à l'étude. Pour évaluer la représentativité de l'échantillon de patients, nous avons comparé les données démographiques des 158 malades de notre étude avec les données issues de la DO dans le département du Nord pendant la même période (235 patients). En effet, ces chiffres représentent 2 estimations d'une même réalité à partir de 2 sources de données indépendantes (tabl. 2). Malgré quelques différences dans la répartition géographique (arrondissement de Valenciennes et de Maubeuge), l'estimation de l'âge et de la nationalité ne différait pas en moyenne, entre les données de la DO et les données obtenues à partir des patients de notre étude. L'excès dans notre échantillon de patients VIH+ est à rapporter à la forte contribution hospitalière, mais ne porte en fait que sur un très petit nombre de patients. Au total, l'échantillon dans notre étude ne présente pas de biais majeur par rapport à ce qui est habituellement connu de la maladie dans le département.

Tableau 2. – Validité de l'échantillon, comparaison des caractéristiques des 158 patients de l'étude avec ceux des 235 patients ayant fait l'objet d'une DO pour la même période

	158 souches	235 DO	p
	%	%	
Âge : 25-44 ans	33	33,2	NS
≥ 65ans	32	31,5	NS
Nationalité :			
Étrangers connus	25,7	23,8	NS
Répartition par arrondissement :			
Lille	56,8	60,0	NS
Dunkerque	12,8	12,0	NS
Douai	5,3	6,6	NS
Valenciennes	8,3	15,2	0,03
Maubeuge	12,8	3,8	< 0,01
Cambrai	3,7	2,0	NS
VIH :			
Statut connu.....	51,6	56,0	NS
VIH+.....	7,4	5,3	NS

NS : non significatif

Le nombre moyen de copies d'IS 6110 par souche (10) est similaire à celui des isolats cliniques retrouvés en région parisienne et au Danemark. Les souches isolées de patients originaires de pays en développement ont plus souvent un nombre de copies soit inférieur à 5, soit supérieur à 15 [6]. Nous retrouvons cette différence, suggérant ainsi l'hétérogénéité des souches et de leur origine géographique.

Les 140 profils d'hybridation différents pour 154 patients montrent un polymorphisme élevé des souches dans notre population. Des profils d'hybridation uniques ont été retrouvés chez 126 patients suggérant ainsi dans 82 % des cas une absence de lien épidémiologique. Dans ce type d'étude épidémiologique, il est d'usage de considérer qu'il s'agit alors de réactivation d'infection ancienne. Les 14 autres profils correspondent à 28 patients (18 %) que l'on peut, par opposition, suspecter d'être impliqués dans une chaîne de transmission récente.

Les études comparables qui ont été menées à New York [7] et San Francisco [8], respectivement en 1990-1992 et 1991-1992, affichent un taux de transmission très élevé (40 %). Ces études ont été réalisées 3 et 4 ans avant la nôtre, dans un contexte sociodémographique complètement différent. En Europe et plus particulièrement au Danemark [9], ce taux était de 26,5 % pour l'année 1992. En France, ces taux plus faibles sont confirmés par les études menées en région parisienne sur les années 1993 et 1995 [10, 11].

Aucune de ces études européennes n'a retrouvé de foyers d'infection comparables à ceux décrits dans les mégapoles américaines (jusqu'à 30 personnes vivant ensemble et infectées par la même souche).

Dans notre étude, les 28 patients entrant dans une chaîne de transmission ont fait l'objet d'investigations complémentaires : recherche de lien de parenté, d'hospitalisation, etc. Aucune association familiale ou nosocomiale n'a été mise en évidence. Il n'y a pas non plus d'infection croisée dans les groupes à risque : patients vivant en collectivité, sans domicile fixe ou prisonniers. Parmi les souches présentant un profil d'hybridation identique, certaines ont été isolées de patients chez qui aucun lien épidémiologique n'a pu être reconstitué (patients habitant à des distances éloignées). La capacité de l'IS 6110 à différencier 2 souches d'origine différente a été démontrée par toutes les études comparant les différents marqueurs génomiques [12] et, malgré l'absence de relation épidémiologique, l'identité de la souche est donc la plus probable. Ces cas pourraient s'expliquer par l'intermédiaire d'une ou plusieurs tierces personnes ayant transmis la même souche entre les 2 patients. Une autre hypothèse est l'existence de souches « anciennes » transmises par le passé et présentes dans la population générale, impliquant donc une réactivation plutôt qu'une infection récente. Un des arguments en faveur de cette hypothèse est l'extrême stabilité de la population dans notre département (flux migratoire : 0,8 %/an).

Vis-à-vis du risque de transmission récente, les études menées aux États-Unis dégageaient les facteurs de risque suivants : patients jeunes de sexe masculin, patients VIH+, de race noire ou hispanique [7, 8]. Au Danemark, les patients entrant dans une chaîne de transmission vivaient essentiellement dans les grandes villes [9]. Pour les études menées sur Paris en 1993 et 1995, l'absence de domicile fixe constituait le seul facteur de risque [10, 11]. Dans le département du Nord en 1995, ces groupes apparaissaient rarement parmi les patients infectés (1 seul patient sans domicile fixe, 1 seul prisonnier, 3 patients vivant en collectivité), et aucun de ces patients ne relevait d'une transmission récente. De même pour l'infection par le VIH, bien que le statut sérologique soit aussi souvent documenté que dans les autres études (plus de la moitié des patients) la fréquence de patients VIH+ était plus faible. Ces effectifs trop faibles ne permettent pas une significativité statistique à la proportion légèrement plus élevée de patients séropositifs dans le groupe des 28 patients retrouvée dans notre étude.

Au total, cette étude montre qu'il n'y avait pas de situation épidémique majeure dans le département du Nord en 1995. La tuberculose était en effet caractérisée par l'absence de foyer décelable de transmission, la faible proportion de patients VIH+ et la proportion élevée de patients âgés, non immigrants. L'épidémie actuelle semble donc majoritairement constituée de cas de réactivation de primo-infections anciennes et le risque d'extension semble par conséquent limité.

RÉFÉRENCES

- [1] SUDRE (P.), TEN DAM (G.), KOCHI (A.). – **La tuberculose aujourd'hui dans le monde.** – *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, 1992, 70 ; 3 : 297-308.
- [2] HUBERT (B.), DESENCLOS (J.-C.), SCHWÆBEL (V.). – **Épidémiologie actuelle de la tuberculose.** – *Méd. Thé.*, 1995 ; 1 : 7-16.
- [3] CAVE M.D., EISENACH K.D., McDERMOTT P.F. *et al.* – **IS 6110: conservation of sequence in the *Mycobacterium tuberculosis* complex and its utilization in DNA fingerprinting.** – *Mol. Cell. Probes*, 1991, 5 : 73-80.
- [4] VAN EMBDEN J.D.A., CAVE M.D., CRAWFORD J.T. *et al.* – **Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting : recommendations for a standardized methodology.** – *J. Clin. Microbiol.*, 1993, 31 : 406-409.
- [5] DECLUDT (B.), VAILLANT (V.). – **Les cas de tuberculose déclarés en France en 1995.** – *BEH*, 1997, numéro spécial, 2 : 16-19.
- [6] TORREA (G.), LEVEE (G.), GRIMONT (P.) *et al.* – **Chromosomal DNA fingerprinting analysis using the insertion sequence IS 6110 and the repetitive element DR as strain-specific markers for epidemiological study of tuberculosis in French Polynesia.** – *J. Clin. Microbiol.*, 1995 ; 33 : 1899-1904.
- [7] ALLAND (D.), KALKUT (G.E.), MOSS (A.R.) *et al.* – **Transmission of tuberculosis in New York city.** – *N. Eng. J. Med.*, 1994 ; 330 : 1710-1716.
- [8] SMALL (P.M.), HOPEWELL (P.C.), SINGH (S.P.) *et al.* – **The epidemiology of tuberculosis in San Francisco.** – *N. Engl. J. Med.*, 1994 ; 330 : 1703-1709.
- [9] YANG (Z.H.), DE HAAS (P.E.W.), WACHMANN (C.H.) *et al.* – **Molecular epidemiology of tuberculosis in Denmark in 1992.** – *J. Clin. Microbiol.*, 1992 ; 33 : 2077-2081.
- [10] TORREA (G.), OFFREDO (C.), SIMONET (M.) *et al.* – **Evaluation of tuberculosis transmission in a community by 1 year of systematic typing of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates.** – *J. Clin. Microbiol.*, 1996, 34 : 1043-1049.
- [11] GUTHERREZ (C.), AUBERT (D.), BIZET (J.) *et al.* – **Typage moléculaire et épidémiologie de la tuberculose en région parisienne.** – *Ves Jour-nées de mycobactériologie de langue française*, 1996, Nice.
- [12] VAN SOOLINGEN (D.), DE HAAS (P.E.W.), HERMANS (P.W.M.) *et al.* – **Comparison of various repetitive DNA elements as genetic markers for strain differentiation and epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis*.** – *J. Clin. Microbiol.*, 1993 ; 31 : 1987-1995.