

CARACTERISATION DE SOUCHES DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MULTIRÉSISTANTES AUX ANTITUBERCULEUX AU NIGER EN 2008
Mamadou S^{1,2}, Piubello A³, Adéhossi E¹, Boukari I⁴, Maïga M D⁴, Gumusboga M⁵, Rigoots L⁵, Van Deun A⁵



1- Faculté des Sciences de la Santé, BP 237, Niamey, Niger
2- LNR-IST/VIH/TB, Hôpital National de Lamordé, BP 10 146, Niamey, Niger.
3-Fondation Damien Niger, BP 1065, Niamey, Niger.
4-Section du Suivi des Patients Résistants, CNAT Niamey.
5- Laboratoire des Mycobactéries de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers, Belgique.

Correspondance: Prof. Ag. Saïdou MAMADOU, Tel/Fax +227 20 31 78 70,
saidou_mamadou@yahoo.fr

RESUME

Cette étude avait pour objectif de déterminer le profil de résistance de *Mycobacterium tuberculosis*, pour adapter le traitement chez 70 tuberculeux chroniques. Les crachats recueillis en tube Falcon avec CPC ont servis à la culture suivie d'identification et des tests de sensibilité aux produits suivants : Isoniazide (H), rifampicine (R), éthambutol (E), streptomycine (S), éthionamide (Eto), ofloxacine (Ofx), kanamycine (Km), capréomycine (Cm) et le prothionamide (Pto). Sur 53 souches de *Mycobacterium tuberculosis* isolées, 51 étaient MDR, avec 1 seul profil de résistance HR, 1 HRE, 15 HRS, 3 HRSEto, 1 HRSCm, 24 HRES, 1 HRESEto, 3 HRESEtoOfx, 1 HRESKm et 1 HRESKmCm ; une souche HE-résistante et une autre sensible à tous les produits. Toutes ces souches étaient Pto-sensibles. *Mycobacterium intracellulare*, *M. palustre* et *M. asiaticum* ont été isolés dans 4 crachats, sans confirmation d'implication pathologique de ces bactéries de l'environnement. Ces résultats préliminaires ont mis en évidence la circulation des MDR-TB et l'émergence de résistance à des antituberculeux de seconde ligne nécessitant une surveillance microbiologique stricte.

Mots clés : *Mycobacterium tuberculosis*, résistance, antituberculeux, Niger.

Summary

The aim of this study was to determine the profile of *Mycobacterium tuberculosis* resistance, than to adapt treatment for 70 chronic tuberculosis patients. Sputums collected in Falcon tube with CPC were used for culture followed by identification and drug susceptibility test, using isoniazid (H), rifampicin (R), ethambutol (E), streptomycin (S), ethionamide (Eto), ofloxacin (Ofx), kanamycin (Km), capreomycin (Cm) and prothionamide (Pto). Among 53 *Mycobacterium tuberculosis* strains, 51 were MDR, with only 1 HR profile of resistance HR, 1 HRE, 15 HRS, 3 HRSEto, 1 HRSCm, 24 HRES, 1 HRESEto, 3 HRESEtoOfx, 1 HRESKm et 1 HRESKmCm ; 1 HE-resistant strain and 1 susceptible to all products. All the strains were Pto-susceptible. *Mycobacterium intracellulare*, *M. palustre* et *M. asiaticum* were isolated from 4 sputums, without confirmation of any pathological implication of these environmental bacteria. These preliminary results showed the evidence of MDR-TB and emergence of second line resistant strains, necessitating a strict microbiological surveillance.

Key words : *Mycobacterium tuberculosis*, resistance, antituberculosis, Niger.

INTRODUCTION

Presque un tiers de la population mondiale est infecté par les bacilles de la tuberculose, environ 8,8 millions développent la maladie chaque année. Plus de 84% de ces nouveaux cas surviennent en Afrique subsaharienne et l'Asie, du fait de la précarité socio-économique et de l'impact du VIH/SIDA. Avec une mortalité annuelle d'environ 1,7 millions de personnes, soit 5 000 par jour, la tuberculose demeure la première cause de décès dus à une maladie infectieuse guérissable par chimiothérapie et évitable par la vaccination (1).

Le contrôle de cette maladie passe par un dépistage actif des formes pulmonaires contagieuses à travers un réseau de microscopie

fiable, le traitement par la stratégie DOTS (directly observed treatment-short course) et une surveillance microbiologique des résistances aux antituberculeux. Il est particulièrement important de dépister les souches MDR (multi-drug resistant) résistantes à l'isoniazide et à la rifampicine au moins. Ceci permet de surveiller l'émergence des souches XDR (extensively drug-resistant) qui sont des MDR résistants aux fluoroquinolones et à au moins un produit injectable de deuxième ligne : kanamycine, amikacine, capréomycine (2,3).

Afin de disposer de données fiables et comparables au plan mondial, des directives conséquentes ont été élaborées par l'Organisation

Mondiale de la Santé (OMS), aussi bien pour les enquêtes périodiques que pour la surveillance de routine de ces résistances (4). Leur mise en œuvre efficace nécessite l'existence d'un laboratoire national de référence (LNR) fonctionnel et bénéficiant d'un contrôle de qualité d'un laboratoire supranational. Le Niger, avec l'appui de la Fondation Damien (Belgique), va disposer d'un LNR fonctionnel en 2010.

Le présent travail fait le bilan des souches étudiées de janvier à décembre 2008, en collaboration avec le laboratoire des mycobactéries de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers. Il a pour objectif général de permettre d'assurer une meilleure prise en charge des patients déjà en échec thérapeutique.

MATERIEL ET METHODES

L'étude a porté sur 70 patients adultes, des deux sexes, provenant de différentes régions

administratives du Niger, et inclus de janvier à décembre 2008. Ils étaient sous traitement antituberculeux de première ligne (rifampicine, isoniazide, pyrazinamide, éthambutol) et suspects de résistance : 49 étaient en échec du retraitement, 13 en rechute, 7 en reprise après abandon et 1 nouveau cas.

Les crachats étaient recueillis et conservés en tube Falcon 50 ml contenant 5 ml de solution aqueuse à 1% de chlorure de cétalpyridinium ou CPC (Cetyl-Pyridinium Chloride) et à 2% de chlorure de sodium. Ils ont été envoyés au laboratoire des mycobactéries de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers pour la culture, l'identification et les tests de sensibilité, par la méthode des proportions sur Loewenstein-Jensen, aux antituberculeux suivants : INH (H), rifampicine (R), éthambutol (E), streptomycine (S), éthionamide (Eto), ofloxacine (Ofx), kanamycine (Km), capréomycine (Cm) et prothionamide (Pto).

RESULTATS

Cinquante trois (53) souches de *Mycobacterium tuberculosis* ont été identifiées et ont bénéficié d'antibiogramme. Une seule était sensible à tous les produits testés, les 52 autres présentaient un des 8 profils de résistance indiqués dans le tableau I.

Tableau I : Fréquence des différents profils de résistance observés

Résistance à	Nombre de souches	%
HE	1	1,92
HR	1	1,92
HRE	1	1,92
HRS	15	28,85
HRSEto	3	5,77
HRSCm	1	1,92
HRES	24	46,15
HRESEto	1	1,92
HRESEtoOfx	3	5,77
HRESKm	1	1,92
HRESKmCm	1	1,92

Pour 4 crachats, des mycobactéries atypiques ou NTM (Non Tuberculosis Mycobacteria) suivantes ont été identifiées : une souche de *Mycobacterium intracellulare*, deux souches de *Mycobacterium palustre* et une souche de *Mycobacterium asiaticum*. Enfin, la primoculture était contaminée par des germes banals pour 4 autres crachats, soit 5,71% (4/70). Dans 9 cas, il n'y avait pas eu de culture, soit 12,86% (9/70).

DISCUSSION

En attendant la réalisation de la première enquête nationale sur la résistance aux antituberculeux, ainsi que la mise en place d'un système approprié de surveillance de routine, conformément aux directives de l'OMS (4), ce travail collaboratif a été initié pour principalement pour adapter la prise en charge des pa-

tients suspects d'échec du traitement antituberculeux de première ligne.

Sur ce plan, les résultats de ce bilan de 2008 nous ont montré que sur 53 souches de *Mycobacterium tuberculosis*, une seule est restée sensible à tous les produits testés : il s'agit d'un cas de mauvaise observance du traitement, et celui-ci a été repris. Les autres étaient

résistantes à au moins un produit, avec plus de 96 % (51/53) de MDR. Ces MDR ont été rapportés déjà dans 115 pays (5). Cependant, de nombreux pays notamment en Afrique subsaharienne comme le Niger ne disposent pas encore de données précises de prévalence ou de suivi de routine des résistances, et ce déficit doit être relevé avec l'accompagnement des partenaires et financiers.

Il est important de souligner l'émergence de souches résistantes à des produits de seconde ligne du traitement antituberculeux, notamment l'ofloxacine, la kanamycine et la capréomycine. De telles souches que l'on peut qualifier de pré-XDR compliquent les possibilités d'une prise en charge efficace des patients. Notons que tous les malades chroniques de cette étude, encore vivants et non perdus de vue à la notification des résultats, sauf celui ayant la souche sensible, ont été mis avec succès, sous régime de seconde ligne expérimenté au Bangladesh (6) : 4 mois sous kanamycine-Prothionamide-INH-Clofazimine (C)-Gatifloxacine (G)-Pyrazinamide (Z)-Ethambutol (E), suivis de 8 mois sous CGZE.

L'absence de culture pour X% de spécimens peut être liée aux difficultés de croissance de certaines souches MDR, mais peut surtout

correspondre aux patients traités éliminant tardivement des bacilles morts positivants les frottis de suivi colorés au Ziehl-Neelsen. Afin de limiter ces faux échecs, il faut pratiquer la coloration vitale FDA (Fluorescein Di-Acetate) par la méthode de Harada et Numata (7) modifiée par Hamid Salim et coll (8). Notons aussi que les faux échecs peuvent être liés à la présence de mycobactéries non tuberculeuses sur frottis comme en culture, à une fréquence pouvant atteindre 4,8% (9, 10). Leur implication dans la pneumopathie peut parfois être évoquée, après isollements répétés en l'absence de bacilles de la tuberculose. Pour les trois espèces de NTM de cette étude, nous retiendrons au moins leur première caractérisation dans des spécimens cliniques au Niger.

CONCLUSION

Ces données montrent l'intérêt du laboratoire aussi bien pour l'investigation étiologique que pour les tests de sensibilité. Même s'il n'y a pas encore de souches XDR, ces résultats préliminaires appellent à une surveillance microbiologique stricte de la résistance aux anti-tuberculeux au Niger. C'est une des missions du tout nouveau laboratoire national de référence, en étroite collaboration avec la Fondation Damien.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1-World Health Organization.** Global tuberculosis control: Surveillance, planning, financing. Global report 2009. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.
- 2-Shah NS, Wright A, Bai GH, Barrera L, Boulahbal F, Martín-Casabona N, Drobniewski F, Gilpin C, Havelková M, Lepe R, Lumb R, Metchock B, Portaels F, Rodrigues MF, Rüsck-Gerdes S, Van Deun A, Vincent V, Laserson K, Wells C, Cegielski JP.** Worldwide emergence of extensively drug-resistant tuberculosis. *Infect Dis* 2007; 13 (3):380-387
- 3-Jain A, Mondal R.** Extensively drug-resistant tuberculosis: current challenges and threats. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008; 53: 145-150.
- 4-World Health Organization.** Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. 4th edition, 2009. http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241598675_eng.pdf
- 5-World Health Organization.** Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Report n°4, 2009. http://whqlibdoc.who.int/hq/2008/WHO_HTM_TB_2008.394_eng.pdf
- 6-Van Deun A, Hamid Salim M A, Kumar Das A P, Bastian I, Portaels F.** Results of a standardised regimen for MDR-TB in Bangladesh. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8(5):560-567.
- 7-Harada S, Numata N.** Application of FDA/EB staining for the detection of viable or non-viable mycobacteria in clinical specimens. *Kekkaku* 1992; 67: 113-117.
- 8-Hamid Salim A, Aung K J M, Hossain M A, Van Deun A.** Early and rapid microscopy-based diagnosis of true treatment failure and MDR-TB. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10 (11): 1248-1254.
- 9-Van Deun A, Aung K J M, Chowdhury S, et al.** Drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* in a rural area of Bangladesh and its relevance to the national treatment regimens. *Int Tuberc Lung Dis* 1999; 3: 143-148.
- 10-Van Deun A, Salim A H, Daru P, et al.** Drug resistance monitoring : combined rates may be the best indicator of performance. *Int Tuberc Lung Dis* 2004; 8: 23-30.