



## ÉTUDE

### ÉPIDÉMIOLOGIE MOLÉCULAIRE DE LA TUBERCULOSE DANS LE DÉPARTEMENT DE LA GUADELOUPE DE 1994 À 1996

C. SOLA, E. LEGRAND, J. MAÏSETTI, L. HORGEN, A. DEVALLOIS, K.S. GOH, N. RASTOGI \*

#### INTRODUCTION

La tuberculose en Guadeloupe a fait récemment l'objet d'une étude épidémiologique rétrospective portant sur les années 1982 à 1994 [1]. Dans ce département d'Outre-Mer, le taux d'incidence de la tuberculose est relativement faible actuellement et comparable à celui d'un pays industrialisé. Cette étude constatait notamment que les personnes âgées, les étrangers, et les patients séropositifs pour le virus VIH présentaient plus de risque de développer une tuberculose-maladie. Depuis 1994, l'Institut Pasteur de Guadeloupe sert également de laboratoire de Référence pour la Tuberculose et les mycobactérioses dans la région Antilles-Guyane, et dans ce contexte un premier travail décrivant la situation de la tuberculose de 1994 à 1996 vient d'être publié [2]. Dans ce cadre, notre laboratoire a débuté parallèlement un programme systématique de caractérisation moléculaire des souches de mycobactéries isolées localement dont l'objectif est double : premièrement, comprendre les filières de transmission de la tuberculose dans la région Antilles-Guyane et évaluer le taux de transmission récente dans ces populations, et deuxièmement étudier la biodiversité génétique des bacilles tuberculeux. Ce premier travail portant sur la Guadeloupe sera complété ultérieurement par des études équivalentes sur les souches de Martinique et de Guyane.

En Guadeloupe, des travaux antérieurs utilisant le marqueur IS6110 ont permis de détecter des cas de transmission active récente [3]. Récemment, une étude similaire a été effectuée dans le département du Nord sur une période d'une année [4]. L'objectif de la présente étude est de caractériser précisément le taux de transmission récente de la tuberculose avec l'aide de quatre marqueurs moléculaires sur une période de trois ans. En effet, outre l'emploi de la méthode IS6110 [3,4], notre travail utilise également d'autres méthodes récemment décrites telles que : spoligotyping, PCR d'éléments répétitifs doubles (DRE-PCR) [5], et la recherche du polymorphisme de la séquence PGRS [6].

#### POPULATION D'ÉTUDE

La population guadeloupéenne répartie sur un territoire de 1 705 km<sup>2</sup> était estimée à 416 600 habitants en 1995. Elle s'accroît de manière saisonnière (de décembre à mai) par l'afflux de nombreux touristes, et les mouvements de population sont alors importants. L'estimation du trafic annuel aérien entre la métropole et la Guadeloupe est de l'ordre de 450 000 personnes par an. Par ailleurs, il existe un solde migratoire positif dû à un courant d'immigration en provenance de la métropole et d'autres îles de la Caraïbe (surtout Haïti et Dominique). À ces flux de population viennent s'ajouter un flux nettement moins important vers et en provenance du Canada et des USA, de l'Amérique du Sud, des autres pays de la zone Caraïbe ainsi que des flux de population dus au trafic maritime. Le ratio population rurale/urbaine est de l'ordre de 4,0. Dans ce contexte, les mouvements des populations sont relativement bien plus importants que ceux du département du Nord [4].

#### RECUEIL DES PRÉLÈVEMENTS ET D'INFORMATIONS

Un total de 9 118 prélèvements en provenance de patients résidant en Guadeloupe ont été reçus entre 1994-1996 à l'Institut Pasteur de Guadeloupe. Sur un total de 136 cas de tuberculose notifiés à la DDASS pour la période mentionnée, les cas bactériologiquement positifs (examen direct et/ou culture positive) ont concerné 107 patients. Sur ces 107 patients, une culture positive a été obtenue chez 100 patients, parmi lesquels 99 cas de *M. tuber-*

*culosis* et 1 cas de *M. bovis* BCG. Ces cas concernent l'ensemble de l'archipel. Toutes les informations démographiques et cliniques disponibles ont été recueillies systématiquement pour les cas étudiés et comprennent l'âge, le sexe, le pays de naissance, le pays de résidence des malades au moment du diagnostic, la forme clinique de la maladie, les antécédents, et le statut VIH.

#### OBTENTION DES EMPREINTES GÉNOMIQUES

La stratégie d'analyse suivante a été adoptée : les souches ont été analysées par la méthode de typage oligonucléotidique (spoligotyping) des séquences espaceurs du locus DR [5]. Les résultats de ce premier groupage ont fait l'objet d'une analyse complémentaire par DRE-PCR [5] et par IS6110 selon un protocole standardisé [3]. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux 1 et 2. Dans ce travail, nous avons retenu une nomenclature des spoligotypes qui a été développée au laboratoire pour définir l'ensemble des spoligotypes de *M. tuberculosis* appartenant à des grappes décrites dans le monde à ce jour. Actuellement numérotées de 1 à 75, seulement 13 de ces spoligotypes sont actuellement présents « en grappe » en Guadeloupe (c'est-à-dire 2 cas au minimum) ; il s'agit des types 2, 3, 12-14, 17, 29, 30, 42, 50, 51, 53, et 63, qui regroupent un total de 53 patients, après confirmation par les méthodes de DRE-PCR et IS6110 (tableau 1). Ces grappes sont numérotées de A à T dans les tableaux 1 et 2 (les types non représentés correspondent à des grappes définies sur des territoires autres que la Guadeloupe). Bien que la méthode PGRS [6] n'ait pas été utilisée systématiquement, l'existence de certaines grappes a été confirmée par Smal-RFLP (tableau 1).

#### RÉSULTATS

##### 1. Patients

Les caractéristiques démographiques des patients étudiés ont été décrites récemment [2]. Brièvement, les patients sont majoritairement des hommes (sex ratio = 1, 7), et la classe d'âge des > 65 ans est la plus atteinte, mais le plus grand nombre de cas est fourni par la tranche d'âge des 25-44 ans (47,8 % des cas). La tuberculose pulmonaire représente la forme clinique dominante (85 % des cas). Le statut sérologique vis-à-vis du VIH est connu pour 75 % des patients parmi lesquels 37 % sont séropositifs pour le VIH. Rapporté au nombre total de patients, le taux de coinfection VIH-tuberculose est estimé à 28 %. La résistance primaire à l'isoniazide est trouvée dans 6 cas et celle à la rifampicine dans 2 cas alors que aucun cas de multirésistance n'est trouvé pendant la période concernée. Environ 25 % des patients sont d'origine étrangère ; 15 % sont originaires de Haïti, 3,5 % de Saint Domingue et 7 % des autres îles y compris la Dominique. Dans cette population, les patients sont en moyenne les plus jeunes (entre 20 et 40 ans) et l'incidence de la tuberculose est de l'ordre de 65,5 cas pour 100 000 comparée à 10,9 cas pour 100 000 habitants pour l'ensemble de la population étudiée.

##### 2. Détermination du taux de transmission active de la tuberculose

Les résultats obtenus sur les isolats provenant de 100 patients étudiés sont résumés dans le tableau 1. Un total de 60 différents profils de spoligotypes ont été détectés. Parmi ceux-ci, 13 profils sont présents chez plus d'un patient et totalisent 64 % des patients. Parmi ces derniers, 5 grappes majeures (2, 14, 29, 50, et 53) regroupent 2/3 des patients (tableau 1). Dans un deuxième temps, nous avons analysé les grappes primaires successivement par DRE-PCR et par IS6110-RFLP car le spoligotyping surévalue le nombre de souches épidémiologiquement liées [5]. Une 14<sup>e</sup> grappe contenant 2 isolats a pu être définie ultérieurement par IS6110-RFLP et DRE-PCR alors que ces souches n'étaient pas interprétables par spoligotyping seul dû à l'absence d'un locus DR consensus (tableau 1, grappe L).

\* Centre de Référence et de Recherche sur la Tuberculose et les Mycobactéries, Institut Pasteur de Guadeloupe.

Auteur chargé de la correspondance : N. RASTOGI, Institut Pasteur de la Guadeloupe, Morne Jolivière, BP 484, 97165 Pointe-à-Pitre Cedex. Tél. : 0590.89.76.61 - Fax : 0590.89.38.80. E-Mail : rastogi@ipagua.gp



Tableau 1 - Résultats d'épidémiologie moléculaire portant sur 100 patients résidant en Guadeloupe.

Spoligo- type	Nombre total de souches	Nombre de souches typées		RÉSULTATS MOLÉCULAIRES	DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES, AUTRES OBSERVATIONS
		IS6110 RFLP meth. 1	DRE PCR meth. 3		
meth. 1					
2	5	5	5	5 souches identiques par les méth. 2, 3 et PGRS, IS-type J	2 patients de l'hôpital A et 2 de B ; dont 2 patients d'une même famille
3	3	3	3	2 souches identiques par les méth. 2 et 3, IS-type P	2 patients hospitalisés dans l'hôpital A
12	2	2	1	2 souches variantes du type 14, profil commun à 4 bandes par IS-type A	en cours d'investigation
13	2	2	ND*	2 souches variantes du profil 14, profil commun à 4 bandes par IS-type A	patients prélevés à 3 jours d'intervalle, hôpital A (contamination croisée ?)
14	14	14	7	14 souches, profil commun à 4 bandes par IS-type A	en cours d'investigation
15	2	2	2	2 souches identiques par méth. 2 et 3, IS-type C	grappe d'importation probable (Surinam)
17	4	4	4	3 souches identiques par méth. 2, 3 et PGRS, IS-type N	2/3 patients hospitalisés dans l'hôpital B
29	5	5	5	5 souches identiques par méth. 2 et 3, IS-type B	3/5 patients hospitalisés dans l'hôpital B
30	2	2	2	2 souches identiques par méth. 2 et 3, IS-type H	2 patients de la même région
50**	8	8	8	2 grappes de 3 et 2 souches par méth. 2 et 3, IS-types E, F	grappes d'importation probable (Haïti)
51	3	3	3	2 souches identiques par méth. 2 et 3, IS-type D	grappe d'importation probable (Haïti)
53**	12	12	10	2 grappes de 2 et 3 souches, identiques par méth. 2, 3 et PGRS, IS-types K, T	3 patients grappe T, du même service de l'hôpital A en 1996
63	2	2	2	2 souches identiques par méth. 2 et 3, IS-type R	2 patients de l'hôpital A (en cours d'investigation)
NA***	2	2	2	2 souches identiques par méth. 2, 3 et PGRS, IS-type L	2 patients hospitalisés dans le même service de l'hôpital C
autres	34	34	34	47 souches non liées****	
Total	100	100	88	53 souches liées dans 13 grappes de spoligotypes et 14 grappes IS6110	Taux de transmission récente = 39 %

\* ND, résultats non disponibles.

\*\* spoligotypes communs peu discriminants

\*\*\* NA, non applicable ; absence du locus DR consensus

\*\*\*\* parmi les 47 souches non-liées, certaines présentent des génotypes communs avec d'autres isolats des pays limitrophes, et sont actuellement en cours d'investigation.

Les résultats complets de ces analyses sont résumés dans le tableau 1. Un total de 11 isolats a pu ainsi être éliminé par DRE-PCR et IS6110-RFLP, ce qui indique une surestimation de l'ordre de 17 % par spoligotyping du nombre de souches réellement liées. Les 53 patients restants font partie de 14 grappes distinctes suggérant l'origine clonale de ces grappes et l'existence de liens épidémiologiques entre ces patients. En éliminant un cas index pour chaque grappe, le taux de transmission récente de tuberculose en Guadeloupe est estimé à 39 %. Il s'agit là d'une estimation maximale pour les 3 années d'investigation. Si on retient l'hypothèse récente de l'existence d'une souche ancestrale typique en Guadeloupe caractérisée par 4 copies de IS6110 [3], l'ensemble des 18 souches de type A de IS6110 (spoligotypes 12-14), représentent probablement à la fois des cas de transmission récente et des cas de réactivation (tableau 1). Dans ce cas l'estimation minimale du taux de transmission récente est d'au moins 24 %. Ces résultats sont comparables avec ceux de la littérature [7], et soulignent que malgré une faible incidence, il existe en Guadeloupe des foyers de microépidémies de tuberculose. La surreprésentation de la grappe A avec 18/53 cas reflète probablement la forte prévalence de la tuberculose, il y a encore une quinzaine d'années [1].

### 3. Évolution de la distribution des génotypes dans le temps

Le tableau 2 présente la distribution des génotypes en grappe année par année. L'analyse de ce tableau montre que le type ancestral A/12-14 [3] est en net recul depuis 1995. De même les types B/29, D51 et H30 semblent être en voie d'extinction. Inversement l'évolution des types J/2, N/17 et K-T/53 n'est pas significative. Par ailleurs de nouveaux types apparaissent (P/3, T/53...). L'étude systématique pour la période 1997-98 actuellement en cours permettra de mieux comprendre l'importance de ces données, par exemple, l'existence de nouveaux cas d'importation ou encore la confirmation de la disparition des génotypes ancestraux comme le type « A/12-14 » liée à la tendance à la baisse récente de l'incidence de la tuberculose en Guadeloupe [1, 2].

Tableau 2 - Distribution des principales grappes de *Mycobacterium tuberculosis* rencontrées en Guadeloupe (par année)

Année	Type moléculaire *											
	J/2	P/3	R/63	A/12-14	B/29	N/17	H/30	S/42	E-F/50	D/51	K-T/53	L
1994	2	0	1	11	4	1	2	1	1	2	1	2
1995	2	1	0	4	0	0	0	0	4	0	1	0
1996	1	1	1	3	1	2	0	1	0	0	3	0
Total	5	2	2	18	5	3	2	2	5	2	5	2

\* Pour une plus grande facilité de lecture, certaines sous-grappes sont regroupées comme un type moléculaire unique.

### 4. Facteur de risque associés aux foyers de transmission

Une étude de typage moléculaire permet de démontrer la clonalité génotypique des isolats étudiés, qui dans notre situation géographique insulaire de petite taille peut être transposable à une réalité épidémiologique donnée, grâce à l'exhaustivité du recrutement. Néanmoins, des investigations sur des dossiers ont été effectuées dans la plupart des cas. Quelques liens épidémiologiques ont été mis en évidence (tableau 1). Afin de déterminer les facteurs de risque potentiellement associés à un risque de transmission, les caractéristiques des patients en grappes ont été comparées avec celles des patients dont les souches ne le sont pas. Deux facteurs semblent être caractéristiques des patients en grappes : premièrement, une sous-représentation de la classe d'âge 0-24 ans (7 % au lieu de 20 % pour l'ensemble des patients) et deuxièmement, une surreprésentation de la forme pleuropulmonaire de

la maladie (95 % au lieu de 84,6 % pour l'ensemble). A l'inverse, sur la période concernée, la nationalité d'un patient ou son statut sérologique vis-à-vis du VIH ne sont pas significativement différents entre les patients en grappes ou non. Par ailleurs, aucun lien entre le fait d'appartenir à une grappe et la résistance aux antibiotiques n'est observé. Suite à ces premières données, la poursuite de ces travaux avec une étude prospective sur dossier et par enquêtes épidémiologiques est maintenant envisagée avec l'aide du Réseau National de la Santé Publique et le Conseil Général de Guadeloupe, qui permettra de mieux cerner d'autres facteurs de risques spécifiques de la transmission de la tuberculose dans notre région (accès aux filières de soins, précarité socio-économique, etc.).

### DISCUSSION

L'objectif de cette étude était de caractériser systématiquement les souches de mycobactéries isolées localement pour étudier les filières de transmission et évaluer le taux de transmission récente de la tuberculose en Guadeloupe, qui par sa nature insulaire constitue un modèle d'étude intéressant. Nos résultats moléculaires basés sur 3 ou 4 marqueurs démontrent un taux de transmission active estimé entre 24 et 39 %, ce qui est inférieur à un pays limitrophe comme Cuba (48 %) [8], comparable à une situation européenne (27 %) [7, 9], mais nettement supérieure à la situation dans le département du Nord (18 %) [4]. Dans ce contexte, l'importance des flux migratoire en Guadeloupe par rapport au département du Nord [4] pourrait partiellement expliquer cette différence.

La sous-représentation de la classe d'âge 0-24 parmi les cas en grappe en Guadeloupe s'explique par la baisse progressive et significative de l'incidence de la tuberculose depuis 1982 [1], avec une incidence encore plus faible pour la période 1994-1996 [2]. Cette tendance semble se confirmer en 1997-98 (résultats non publiés). La poursuite de ces travaux sur une période plus longue nous permettra d'affirmer ou non, que le fait d'être un patient d'origine étrangère ou d'être séropositif pour le VIH constitue, en Guadeloupe, un risque supplémentaire de transmettre la maladie dans la population générale. De plus, l'apparition d'un génotype décrit ailleurs et jusqu'alors absent en Guadeloupe permettra d'affirmer que ce type moléculaire est d'importation récente, voire retrouver son origine grâce à des banques de données. Il est également possible de suivre l'évolution d'un génotype donné (dissémination ou extinction) ce qui permet d'accéder aujourd'hui à des travaux ayant un intérêt à la fois local par la prévention de l'épidémie, et global par l'étude de la circulation des souches dans le monde. L'extension de ces travaux à toute la région Antilles-Guyane, actuellement en cours, nous permettra d'étudier la transmission de la tuberculose entre les trois départements français d'Amérique.

D'un point de vue méthodologique, cette étude confirme que l'utilisation de l'association de deux techniques rapides basées sur l'amplification génique telles que « spoligotyping plus DRE-PCR », constitue une stratégie aussi fiable que l'utilisation plus contraignante de la méthode de référence IS6110-RFLP [5].

### RÉFÉRENCES

- [1] ROUSSEL H., THÉODORE M., RASTOGI N. Évolution de la tuberculose en Guadeloupe entre 1982 et 1994. *BEH*, 1996, 2 : 5-6.
- [2] RASTOGI N., SCHLEGEL L., PFAFF F., JEANNE I., MAGNIEN C., LAJOINIE G., SAEZ C., FIRMIN F., MAZILLE V., THÉODORE M. La tuberculose en région Antilles-Guyane. Situation épidémiologique de 1994-1996. *BEH*, 1998, 11 : 45-47.
- [3] SOLA C., HORGES L., GOH K.S., RASTOGI N. Molecular fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* on a caribbean island with IS6110 and DRr probes. *J. Clin. Microbiol.* 1997, 35 : 843-846.



- [4] VACHEE A., VINCENT P., SAVAGE C., CAILLAUX M., PITHOUD L., CHANGÉON C., VERITE E., DE DECKER L., SIMONET M. *Épidémiologie moléculaire de la tuberculose dans le département du Nord en 1995*. *BEH*, 1997, 30 : 137-139.
- [5] SOLA C., HORGEN L., MAÏSETTI J., DEVALLOIS A., GOH K.S., RASTOGI N. *Spoligotyping followed by double-repetitive-element PCR as rapid alternative to IS6110 fingerprinting for epidemiological studies of tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.*, 1998, 36 : 1122-1124.
- [6] POULET S., COLE S.T. *Characterization of the highly abundant polymorphic GC-rich repetitive sequence (PGRS) present in Mycobacterium tuberculosis*. *Arch. Microbiol.*, 1995, 163 : 87-95.
- [7] VAN DEUTEKOM H., GERRITSSEN J.J., VAN SOOLINGEN D., VAN AMEL-

- JDEN E.J., VAN EMBDEN J.D., COUTINHO R.A. *A molecular epidemiological approach to studying the transmission of tuberculosis in Amsterdam*. *Clin. Infect. Dis*, 1997, 25 : 1071-1077.
- [8] DIAZ R., DE HAAS P.E.W., GOMEZ R.I., MARRERO A., VALDIVIA J.A., VAN EMBDEN J.D.A., VAN SOOLINGEN D. *Molecular epidemiology of tuberculosis in Cuba outside of Havana, July 1994-June 1995 : utility of spoligotyping versus IS6110 restriction fragment length polymorphism*. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis*, 1998, 2 : 743-750.
- [9] YANG Z.H., DE HAAS P.E.W., WACHMANN C.H., VAN SOOLINGEN D., VAN EMBDEN J.D., ANDERSEN A.B. *Molecular epidemiology of tuberculosis in Denmark in 1992*. *J. Clin. Microbiol.*, 1995, 33 : 2077-2087.

# 8<sup>e</sup> COLLOQUE SUR LE CONTRÔLE ÉPIDÉMIOLOGIQUE DES MALADIES INFECTIEUSES

## 28 MAI 1999

### GRAND AMPHITHÉÂTRE

### INSTITUT PASTEUR, 25, RUE DU DR ROUX – 75015 PARIS

#### PRÉ-PROGRAMME

##### **Climatologie et maladies infectieuses**

- Réchauffement global de la planète – Mythe ou réalité ?
- Phénomène El Niño : mécanisme et conséquence : évolutivité dans le temps
- Retentissement géographique, écologique, économique, démographique : vulnérabilité des populations
- Conséquences en écologie humaine et pathologie générale
  - Rongeurs et hantavirose – Maladies transmises par les arthropodes : Dengue – Paludisme – Borréliose à tiques – Choléra
- Évaluation rapide de la situation microbiologique : rôle d'un laboratoire mobile
- Réponse à une épidémie – exemple du choléra à Djibouti
- Surveillance et prévention : la télé détection
  - L'outil technique – Application à l'onchocercose, la loase

##### **Épidémiologie, Prévention de l'hépatite C**

- Épidémiologie, mode de transmission
  - Sanguine – Sexuelle – Iatrogène (endoscope, appareil dosage glycémie)
- Épidémiologie moléculaire en France et en Europe – génotypes
- Dépistage. Pourquoi ?
  - En santé publique – Signification sociale
- Prévention
  - Prise en charge après une exposition accidentelle – Perspectives vaccinales
- Problèmes juridiques – indemnisation

*Le montant des frais d'inscription est de 300 F  
(non compris le déjeuner sur place dans les locaux de l'institut Pasteur : 80 F).*

Du fait de mouvements de protestation des médecins inspecteurs de santé publique et d'autres catégories de personnel du Ministère chargé de la santé, les relevés hebdomadaires de déclarations obligatoires de maladies ne sont pas transmises par les Directions Départementales des Affaires Sanitaires et Sociales.

Dans ces conditions, la publication des données relatives à la situation épidémiologique hebdomadaire des maladies transmissibles est momentanément suspendue.