

Répartition des espèces de mycobactéries dans une série de tuberculoses pulmonaires au Centre antituberculeux de Pointe Noire (République du Congo)

Mycobacterial species repartition: experience of the Antituberculosis Center in Pointe Noire (Republic of Congo)

E.N. Ontsira Ngoyi · Obengui · R. Taty Taty · E. L. Koumba · P. Ngala · R.B. Ossibi Ibara

Reçu le 3 juillet 2013 ; accepté le 22 juillet 2014
© Société de pathologie exotique et Lavoisier SAS 2014

Résumé L'objectif de ce travail était de décrire les espèces de mycobactéries isolées au centre antituberculeux de Pointe-Noire au Congo Brazzaville. Il s'agissait d'une étude transversale descriptive, réalisée entre septembre 2008 et avril 2009 (7 mois). Un échantillonnage aléatoire simple a été mis en place chez les patients du centre antituberculeux de Pointe-Noire (centre de référence sur le diagnostic et le traitement de la tuberculose). Il s'agissait des patients se présentant en consultation avec des symptômes faisant soupçonner une tuberculose pulmonaire. Ainsi, de ces patients, un échantillonnage de prélèvements des expectorations en trois séances a été mis en place et ces prélèvements ont fait l'objet des techniques de coloration au Ziehl-Neelsen et à l'auramine au centre antituberculeux de Pointe-Noire. La culture, l'hybridation moléculaire et l'étude de la sensibilité aux antituberculeux de première ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol, pyrazinamide ou streptomycine) par la méthode de diffusion en milieu gélosé ont été effectuées dans le laboratoire Cerba Pasteur en France. Ainsi, parmi 77 patients, 24 échantillons (31,20%) étaient positifs à l'examen microscopique et 45 échantillons

(58,44%) étaient positifs à la culture et à l'identification par hybridation moléculaire. Les espèces de mycobactéries du complexe tuberculosis isolées étaient *M. tuberculosis* dans 31 cas (68,9%) et *M. africanum* dans 3 cas (6,67%). Les mycobactéries non tuberculeuses (NMT) ont été isolées en association ou non avec *M. tuberculosis* dans 9 cas (20%) et l'espèce la plus fréquente était *M. intracellulare*. Sept souches de *M. tuberculosis* (41,20%) ont été testées sensibles aux antituberculeux de première ligne, 8 souches (47%) ont présenté une monorésistance et 2 souches (12%) une multirésistance à la fois à l'isoniazide et à la rifampicine (MDR). Cette étude a montré l'importance des espèces de mycobactéries du complexe tuberculosis et celles des mycobactéries non-tuberculeuses dans la tuberculose pulmonaire. Les données sur l'étude de la sensibilité aux antituberculeux de première ligne, peuvent aider les praticiens médicaux dans la prise en charge de la tuberculose pulmonaire. Par ailleurs, une étude prenant en compte un échantillon plus large est recommandée en vue de confirmer ces données.

Mots clés Tuberculose pulmonaire · Mycobactéries · Pointe Noire · République du Congo · Afrique sub-saharienne

E.N. Ontsira Ngoyi (✉) · Obengui · R. Taty Taty · E. L. Koumba
Département de microbiologie et hématologie,
Faculté des sciences de la santé de Brazzaville,
République du Congo
e-mail : esther_muller2003@yahoo.fr

P. Ngala
Centre antituberculeux de Pointe-Noire,
République du Congo

R.B. Ossibi Ibara
Service des maladies infectieuses, CHU de Brazzaville,
République du Congo

E.N. Ontsira Ngoyi
Laboratoire de bactériologie-immunologie-virologie,
CHU de Brazzaville, République du Congo

Abstract The aim of the present work was to describe mycobacteria species isolated in the antituberculosis center of Pointe-Noire city in Congo Brazzaville. It was a descriptive transversal study, conducted between September 2008 and April 2009 (7 months). A simple random sample was established from patients who came to the antituberculosis center of Pointe-Noire City (reference center on diagnosis and treatment of tuberculosis). To those patients consulting with symptoms leading to suspect pulmonary tuberculosis, a sputum sampling in three sessions was conducted. Staining techniques to Ziehl-Neelsen and auramine were performed in Pointe-Noire. Culture, molecular hybridization and antibiotic susceptibility testing to first-line antituberculosis

drugs (isoniazid, rifampicin, ethambutol, pyrazinamide or streptomycine) using diffusion method on agar were performed in Cerba Pasteur laboratory in France. In 77 patients, 24 sputum (31.20%) were positive to the microscopic examination and 45 (58.44%) to the culture and identification by molecular hybridization. Mycobacteria species complex isolated were *M. tuberculosis* with 31 cases (68.9%) and *M. africanum* with 3 cases (6.67%). Non-tuberculous mycobacteria (NMT) were isolated in association or not with *M. tuberculosis* in 9 cases (20%) and the most common species were *M. intracellulare*. In *M. tuberculosis* species, 7 strains (41.20%) were tested sensitive to the first-line antituberculosis drugs, 8 cases (47%) monoresistance and 2 cases multidrug resistance at both isoniazide and rifampicine (12%) (MDR). This study showed the importance of *Mycobacteria* species complex and non-mycobacteria species in pulmonary tuberculosis. The data on resistance can help medical physicians in the treatment of pulmonary tuberculosis. Another study with a large population is required to confirm these data.

Keywords Pulmonary tuberculosis · Mycobacteria · Pointe Noire · Republic of the Congo · Sub-Saharan Africa

Introduction

En 2011, 8,7 millions de nouveaux cas de tuberculose ont été déclarés dans le monde, dont 13 % de cas de coinfection avec le VIH. La même année, on notait dans le monde 1,4 millions de décès liés à la tuberculose, dont 1 million avec un statut sérologique VIH négatif et 430 000 avec un statut sérologique VIH positif (5). Les espèces bactériennes du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MT) telles que *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) et *M. africanum* sont des agents étiologiques de la tuberculose (TB) et restent parmi les agents les plus pathogènes et les plus décrits dans le monde. Au Congo Brazzaville, l'incidence de la tuberculose toutes formes confondues, dans tout le pays, durant trois ans (2008, 2009, 2010) est de 382 cas pour 100 000 habitants (5). Dans le domaine du diagnostic, l'étude bacilloscopique des crachats par la méthode de coloration de Ziehl Neelsen est la seule technique utilisée au Congo, en raison de la faiblesse du plateau technique.

Ce présent travail a été initié avec pour objectif de décrire les espèces de mycobactéries isolées au Centre antituberculeux (CAT) de Pointe-Noire.

Matériel et méthodes

Une étude a été menée à Pointe-Noire, la deuxième ville du Congo Brazzaville, au CAT, entre septembre 2008 et avril

2009, soit durant sept mois. Durant la période d'étude, 550 patients ont consulté pour une suspicion de tuberculose pulmonaire et présentaient des symptômes faisant suspecter une tuberculose pulmonaire : toux évoluant de puis plus de deux semaines, fièvre, amaigrissement de plus de 10 %... Ils étaient âgés de 9 ans à 60 ans (âge moyen 33,5 ans), avec 340 sujets de sexe masculin (61,8 %) et 210 sujets de sexe féminin (38,2 %). Le taux de positivité à l'examen direct dans ce groupe de 550 personnes était de 22 % (120 cas). Quarante-sept de ces patients étaient de nouveaux cas (72,5 %) et 33 des cas anciens (27,5 %). Les anciens cas avaient suivi auparavant un traitement antituberculeux de première ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol, pyrazinamide ou streptomycine). Un échantillonnage aléatoire simple de seulement 77 personnes sur les 550 a été mis en place, en raison du coût élevé de l'étude. Cet échantillonnage a fait l'objet d'une étude de type transversal descriptif. Chez ces patients, un prélèvement des expectorations en trois séances a été réalisé en suivant le guide de prélèvement des expectorations du Programme national de lutte contre la tuberculose (PNLT). Les techniques de coloration de Ziehl-Neelsen et à l'auramine ont été pratiquées au CAT, alors que la culture sur milieu liquide à l'aide de l'automate BACTEC™ MGIT™ Système de la firme BD et sur milieu solide de type Coletsos (bioMérieux) a été réalisée au laboratoire Pasteur Cerba de Saint-Ouen-l'Aumône en France, techniques non réalisables au Congo. L'ADN était ensuite extrait des colonies bactériennes puis l'amplification génique et l'hybridation moléculaire ont été réalisées avec le kit Genotype^R Mycobacterium CM (VER 1.0) de la firme HAIN LIFESCIENCE en vue de l'identification des mycobactéries. *M. africanum* était identifiée à l'aide des caractéristiques biochimiques standard telles que la détection de la production de niacine et la réduction de nitrate (2).

La sensibilité aux antituberculeux de première ligne (isoniazide, rifampicine, éthambutol, pyrazinamide ou streptomycine) a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le statut sérologique VIH des patients n'a pas été déterminé en raison des limites du plateau technique du laboratoire pendant la période d'étude.

Résultats

La répartition selon la densité bacillaire à l'examen microscopique était la suivante :

- + : 1-9 bacilles/100 champs (7 cas) ;
- ++ : 1-9 bacilles/10 champs (9 cas) ;
- +++ : 1-9 bacilles/champ ou plus de 10 bacilles/champ (8 cas).

Le tableau 1 présente les différentes espèces de mycobactéries isolées après hybridation moléculaire, parmi les

45 patients ayant présenté une culture positive. En raison du coût élevé de l'étude, l'évaluation de la sensibilité des mycobactéries aux antibiotiques de première ligne n'a été réalisée que dans 17 cas de *M. tuberculosis* dont 5 cas (29,41 %) chez des patients en échec thérapeutique (mauvaise observance thérapeutique). Ainsi, 7 souches ont été testées sensibles (41,20 %), 8 résistantes (47 %) à l'un des antituberculeux (isoniazide, rifampicine, éthambutol, pyrazinamide ou streptomycine) et 2 (12 %) résistantes à la rifampicine et l'isoniazide (souches multirésistantes ou MDR). Les 2 souches MDR ont été isolées chez des patients en échec thérapeutique.

Parmi 77 patients, 24 cas positifs (31,20 %) à l'examen microscopique des crachats et 45 (58,44 %) à la culture et à l'identification par hybridation moléculaire. Il s'est agit de 27 patients (60 %) de sexe masculin et 18 (40 %) de sexe féminin, soit un sex ratio H/F de 1,5. L'âge moyen des patients était de 31,19 ans avec des extrêmes de 11 ans et 57 ans.

Discussion

L'importante proportion des cas de TB dans cette étude confirme ainsi les données de l'OMS ; la tuberculose est un réel problème de santé publique au Congo. Concernant les espèces isolées, *M. tuberculosis* était la mycobactérie la plus fréquente. Notons la fréquence importante des mycobactéries non tuberculeuses avec en tête de liste *M. intracellulare*. Ces mycobactéries étaient identifiées seules ou en association avec *M. tuberculosis*. Les mycobactéries du complexe tuberculosis les plus fréquentes ont été *M. tuberculosis* et *M. africanum*. La prédominance de *M. tuberculosis* dans notre étude corrobore les données de la littérature (4). Les mycobactéries non tuberculeuses (MNT) ont été identifiées dans 9 cas (20 %), seules ou en association avec *M. tuberculosis*. Ces résultats corroborent avec ceux de Falkinham (3) qui avait

retrouvé 6 cas de mycobactéries non tuberculeuses dans une série de 31 mycobactéries (19,35 %), mais différent de ceux d'Asiimwe et al (1) qui en retrouvaient environ 5 %. *M. intracellulare* était la MNT la plus fréquente avec 6 cas sur 9 (67 %). Ces résultats sont différents de ceux d'Asiimwe et al (1) qui rapportent une prédominance de *M. fortuitum* ; *M. intracellulare* venant au 4^e rang dans leur étude. Les infections pulmonaires dues aux mycobactéries non tuberculeuses surviennent généralement chez les patients immunodéprimés ou des patients ayant des maladies pulmonaires chroniques, telles que la fibrose ou chez des patients fumeurs ou exposés à la poussière. L'état immunitaire des patients et leur état pulmonaire antérieur n'étant pas connu dans cette étude, il est difficile de faire une relation de cause à effet entre les mycobactéries non tuberculeuses isolées et la tuberculose pulmonaire. Les résultats sur l'étude de la sensibilité de *M. tuberculosis* aux traitements antituberculeux a montré un taux de résistance à au moins un antibiotique de 59 % (n=10), bien que l'échantillonnage soit faible (n=17), dont 12 % (n=2) de bactéries multirésistantes à l'isoniazide et à la rifampicine (MDR) et 47 % (n=8) de monorésistance. Ce résultat est supérieur à celui trouvé au Burkina Faso, où l'on rapporte un taux de MDR de 1,6 % (4).

Conclusion

Cette étude montre l'importance des MNT et donne un aperçu sur les bactéries multirésistantes. Il s'agit d'un travail préliminaire en raison de la limitation des ressources financières, les résultats de l'étude n'étant pas strictement généralisables à la population générale. Une étude prenant en compte un échantillon plus large est recommandée. Elle aiderait certainement les pouvoirs publics à apporter des modifications dans les protocoles de prise en charge des patients, vu que le traitement de seconde ligne n'est pas

Tableau 1 Espèces de mycobactéries isolées par hybridation moléculaire / *Mycobacterial species isolated by molecular hybridization.*

Espèce	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
<i>M. tuberculosis</i>	31	70
<i>M. intracellulare</i> *	5	11
<i>M. africanum</i>	3	7
<i>M. intracellulare</i> *+ <i>M. fortuitum</i> *	1	2
<i>M. spp</i>	1	2
<i>M. tuberculosis</i> + <i>M. abscessus</i> *	1	2
<i>M. tuberculosis</i> + <i>M. smegmatis</i> *	1	2
<i>M. tuberculosis</i> + <i>M. africanum</i>	1	2
Total	45	100

*Mycobactéries non tuberculeuses (MTN).

formellement utilisé dans la prise en charge des patients tuberculeux au Congo.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

1. Asimwe BB, Bagyenzi GB, Ssenooba W, et al (2013) Species and genotypic diversity of non-tuberculous mycobacteria isolated from children investigated for pulmonary tuberculosis in rural Uganda. *BMC Infect Dis* 13:88
2. Desmond E, Ahmed AT, Probert WS, et al (2004) *Mycobacterium africanum* Cases, California. *Emerg Infect Dis* 10(5):921–3
3. Falkinham JO (2009) Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment. *J Appl Microbiol* 107(2):356–67
4. Godreuil S, Torrea G, Terru D, et al (2007) First Molecular Epidemiology Study of *Mycobacterium tuberculosis* in Burkina Faso. *J Clin Microbiol* 45(3):921–7
5. OMS (2012) Global Tuberculosis Report, 89 p