

## Un cas de tuberculose pulmonaire à *Mycobacterium bovis* multirésistant à Madagascar

Ramarokoto H<sup>1</sup>, Andrianasolo D<sup>2</sup>, Rasolonalona T<sup>1</sup>, Ramaroson F<sup>2</sup>, Razafitsiarovana I<sup>3</sup>, Vincent V<sup>4</sup>, Ratsimba L<sup>2</sup>, Rasolofo Razanamparany V<sup>1</sup>

**RESUME** □ Nous présentons ici un cas de tuberculose pulmonaire chronique chez un patient habitant la région d'Antsohihy, chez qui une souche de *Mycobacterium bovis* multirésistante (MDR) aux antibiotiques a été isolée.

**Mots-clés** : *Mycobacterium bovis* - Multirésistance - Madagascar.

**ABSTRACT** □ "A case of pulmonary multiresistant tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in Madagascar" : We report a chronic case of pulmonary tuberculosis in a Malagasy citizen from Antsohihy (West of Madagascar), who was infected with a multi-drug resistant *Mycobacterium bovis* strain. This is the first case reported of the isolation of such a strain in Madagascar.

**Key-words** : *Mycobacterium bovis* - Multi-drug resistance - Madagascar.

### INTRODUCTION

La tuberculose, grave problème de santé publique à Madagascar, est généralement due à *Mycobacterium tuberculosis* et plus rarement à *M. bovis* (environ 1% des cas de tuberculose) [1]. Le régime thérapeutique préconisé par le Programme National Tuberculose [2] pour le traitement des patients est identique quelle que soit la souche à l'origine de la maladie. Le traitement court de première ligne, 2ERHZ/6HT, est composé de 2 mois d'éthambutol (E), rifampicine (R), isoniazide (H), pyrazinamide (Z), suivis de 6 mois d'isoniazide (H) et thiacétazone (T). En cas d'échec, le régime de chimiothérapie standardisé de deuxième ligne, 2 SRHEZ/1RHEZ/5R<sub>3</sub>H<sub>3</sub>E<sub>3</sub>, composé de 2 mois de S, R, H, E et Z, suivis d'un mois de R, H, E, Z, puis de 5 mois de R, H, E en trois prises hebdomadaires est appliqué. Par définition, un cas d'échec est un malade tuberculeux pulmonaire à microscopie positive dont les frottis restent ou redeviennent positifs après cinq mois ou plus de traitement de première ligne; un cas chronique est un malade resté microscopie positive à la fin du régime de retraitement [3].

La résistance globale primaire aux antituberculeux n'est à ce jour que de l'ordre de 11,2% [4,5]. De même, le taux de multirésistance (MDR) primaire, définie comme la résistance à au moins l'isoniazide et la rifampicine [5], les deux antibiotiques majeurs du traitement antituberculeux, est encore faible, de l'ordre de 0,1% chez les nouveaux cas

de tuberculose pulmonaire témoignant d'une faible population de bacilles multirésistants circulant dans la collectivité.

Nous présentons dans cet article le cas d'un patient, en échec chronique de tuberculose pulmonaire, chez qui une souche *M. bovis* multirésistante (MDR) a été isolée. Il s'agit du premier cas décrit à Madagascar.

### DESCRIPTION DU CAS (figure)

En novembre 1996, Monsieur AE, 48 ans, habitant d'Antsohihy, gendarme de profession, 1,64 m pour 48 kg et n'ayant pas d'antécédents pathologiques particuliers, s'est présenté au Centre Hospitalier de District II (CHD II) d'Antsohihy pour toux chronique. Une tuberculose pulmonaire à microscopie positive (TPM<sup>+</sup>) a été diagnostiquée. Il lui a été prescrit le régime de traitement long 2STH/10TH comprenant 2 mois de S, H et T suivis de 10 mois de T et H, le traitement court n'étant pas encore généralisé à cette époque mais disponible seulement dans quelques centres choisis par le PNT. Lors du contrôle à 6 mois de traitement, le patient a eu des expectorations encore positives à la microscopie et a donc été déclaré "échec au traitement". Il a alors été transféré au Centre Catholique de Tsarahonenana-Antsohihy où il lui a été prescrit le régime de deuxième ligne 2SRHEZ/1RHEZ/5R<sub>3</sub>H<sub>3</sub>E<sub>3</sub>. Tous les contrôles de la microscopie aux 2<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> et 8<sup>ème</sup> mois de retraitement sont restés positifs. Le patient a été déclaré échec au retraitement et en janvier 1998, il a arrêté tout traitement.

Le patient a ensuite été hospitalisé en mai 1999 au Centre Hospitalier de Soavinandriana (CenHoSoa) à Antananarivo. Le bilan sanguin a

<sup>1</sup> Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274 - 101 Antananarivo - Madagascar.

<sup>2</sup> Centre Hospitalier de Soavinandriana, BP 6 bis - 101 Antananarivo - Madagascar.

<sup>3</sup> Dispensaire antituberculeux d'Antananarivo, Institut d'Hygiène Sociale - 101 Antananarivo - Madagascar.

<sup>4</sup> Centre National de Référence des Mycobactéries, Institut Pasteur de Paris, 25-28 rue du Dr Roux - 75724 Paris Cedex 15- France.

Figure : Description du cas

	nov-96	mai-97	janv-98	mai-99	févr-00	mars-01	oct-01	févr-03	mars-03
Centre de santé	CHDII Antsohihy	Centre Catholique Tsarahonenana		CENHOSOA		IHS	CENHOSOA		
Diagnostic		contrôle 6 <sup>e</sup> mois	contrôle 8 <sup>e</sup> mois	Diagnostic	contrôles 3 <sup>e</sup> -8 <sup>e</sup> mois	Diagnostic		contrôle 13 <sup>e</sup> mois	
Microscopie*	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Culture*	NF	NF déclaré "Echec"	NF	+	NF mycobactérie atypique	+	+	+	+
Traitement	2STH/10TH	2SRHEZ/1ERHZ/5R <sub>3</sub> H <sub>3</sub> E <sub>3</sub>		2SRHEZ/1ERHZ/ 5R <sub>3</sub> H <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	TTT prolongé 1 mois, puis arrêté VIH négatif		3SERHZ puis HTE+OFLO		
						<i>M. bovis</i> MDR	<i>M. bovis</i> MDR	<i>M. bovis</i> MDR	VIH négatif

\* + : positive ; - : négative ; NF : non faite

révéla une VSH (vitesse de sédimentation des hématies) élevée. L'examen microscopique direct des expectorations n'ayant pas été concluant, le liquide d'aspiration bronchique a été analysé pour la recherche de bacille tuberculeux au laboratoire des mycobactéries de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM). Bien que la recherche de baar (bacille acido-alcool-résistant) par l'examen microscopique ait été positive (>10 baar par champ microscopique en fluorescence), aucun bacille n'a pu être isolé par la culture sur milieu de Lowenstein-Jensen (LJ). En février 2000, le bilan sanguin s'est révélé normal, des traces d'albumine ont été trouvées dans les urines (COMBI-TEST®). La recherche de baar dans les expectorations par la microscopie a été positive. La culture sur milieu de LJ a également été positive (moins de 50 colonies par tube de LJ), mais les bacilles isolés ont été identifiés comme des mycobactéries atypiques. Cependant, le régime de retraitement standard de 8 mois (2SRHEZ/1RHEZ/5R<sub>3</sub>H<sub>3</sub>E<sub>3</sub>) lui a été de nouveau prescrit. Tous les contrôles de la microscopie effectués jusqu'au 8<sup>ème</sup> mois de retraitement étant positifs, le traitement a été prolongé d'un mois puis arrêté.

En mars 2001, le patient s'est présenté au dispensaire antituberculeux d'Antananarivo (Institut d'Hygiène Sociale). Le bilan sanguin était toujours normal et l'albuminurie positive (traces; COMBI-TEST®). L'examen de crachat, effectué à l'IPM, a révélé une microscopie positive (>10 baar par champs microscopique en fluorescence); la culture sur milieu de LJ a permis d'isoler des colonies de mycobactéries (50 à 100 colonies par tube) qui ont pu être identifiées comme *M. bovis*. Le test de sensibilité aux antibiotiques, réalisé sur milieu de LJ par la méthode des proportions [6], a montré que la souche était multirésistante aux quatre antibiotiques S, H, R et E. La souche a été envoyée au Centre National de Référence des Mycobactéries de l'Institut Pasteur à Paris qui a confirmé la

multirésistance de cette souche *M. bovis* à S (4µg/ml), H (10µg/ml), R (40µg/ml) et E (2µg/ml), mais aussi à Z (100µg/ml), à la capréomycine (20µg/ml) et à PAS (0,5µg/ml); par contre, elle a été testée sensible à T (2µg/ml), à l'ofloxacine (2µg/ml), à l'éthionamide (10µg/ml), à la ciprofloxacine (2µg/ml), à l'amikacine (4µg/ml) et à la kanamycine (4µg/ml). Par ailleurs, cette souche a été typée à l'IPM par la méthode de "Restriction Fragment Length Polymorphism" (RFLP) avec le marqueur IS6110 [7] et par spoligotyping [8]; elle avait le génotype majoritaire observé chez les souches *M. bovis* animales et humaines isolées à ce jour à Madagascar (résultats en cours de publication).

Le patient est revenu au CENHOSOA en octobre 2001. L'autoradiographie des poumons a montré une image rétractile apicale gauche et une image infiltrative diffuse des deux champs pulmonaires, d'aspect miliaire évoquant une lésion tuberculeuse évolutive. Toutefois, la radiographie des poumons du premier diagnostic en 1996 n'étant pas disponible, il n'a pas été possible de connaître l'évolution des lésions depuis le début de la maladie. L'examen microscopique des crachats recueillis en octobre 2001 a été positif (>100 baar par champ microscopique en fluorescence). La culture sur milieu de LJ a permis d'isoler des colonies identifiées à *M. bovis*, testées multirésistantes à S, H, R et E. Le traitement administré au patient a été de 3 mois avec S, H, R E et Z suivis de 12 mois avec H, T, E et ofloxacine sous hospitalisation. L'examen microscopique des crachats lors des contrôles aux 2<sup>ème</sup>, 8<sup>ème</sup> et 10<sup>ème</sup> mois a été négatif, mais à nouveau positif au 13<sup>ème</sup> mois. Le traitement a alors été poursuivi jusqu'à la fin de janvier 2003.

En janvier 2003, la radiographie pulmonaire a montré une image bulbeuse du culmen, avec une opacité significative du champ pulmonaire droit, sans évolution notable par rapport au cliché antérieur. Les crachats de ce patient sont parvenus à l'IPM en février 2003. La microscopie a été positive

(<10 baar par champ microscopique en fluorescence), et un *M. bovis* résistant à S, H, R et E a encore été isolé.

Notons que le patient a toujours été dans un bon état général et que les sérologies VIH faites en 2000 et en 2003 ont été négatives. Actuellement, le patient est toujours hospitalisé. Un nouveau schéma thérapeutique comprenant des antituberculeux de seconde ligne lui a été proposé [9]. Cependant, le traitement ne pourra débuter que lorsque tous les antibiotiques nécessaires seront disponibles.

## DISCUSSION

En résumé, nous avons présenté le cas d'un patient tuberculeux pulmonaire diagnostiqué en novembre 1996, en échec chronique de traitement antituberculeux depuis 1997. C'est le premier cas de tuberculose à *M. bovis* multirésistant décrit à Madagascar. Le patient ayant été préalablement traité à Antsohihy où seul le diagnostic par la bacilloscopie était pratiqué, il n'a pu bénéficier de l'analyse des expectorations par la culture que lors de son transfert à Antananarivo en 1999. La première remarque est la culture négative du liquide de lavage bronchique en 1999, malgré une microscopie fortement positive. La deuxième observation est ensuite l'isolement de deux espèces différentes de mycobactéries chez ce patient : une mycobactérie atypique (que nous n'avons pas identifiée) isolée à partir de trois crachats différents en février 2000 et une souche *M. bovis* multirésistante isolée à trois reprises en mars 2001, octobre 2001 puis en février 2003. Il est difficile de déterminer si ces deux mycobactéries étaient présentes simultanément chez ce patient dès le début de la maladie, et si ce sont les conditions de culture qui ont résulté en l'isolement de l'une ou l'autre espèce. On peut toutefois souligner que la souche *M. bovis*, même si elle n'a été isolée qu'en 2001, était vraisemblablement présente quand le patient habitait encore à Antsohihy, grande région d'élevage de zébus où la prévalence de la tuberculose bovine est relativement élevée (21%; données de la Direction des Services Vétérinaires/Ministère de l'Élevage, 1998).

La résistance d'une souche à un antibiotique est expliquée par l'apparition spontanée d'une mutation ponctuelle dans le gène cible de l'antibiotique [10]. La multirésistance est due à l'accumulation de plusieurs mutations successives dans une souche. Ces mutations sont des événements très rares dans une population bactérienne, et la sélection de souches multirésistantes chez un patient résulte généralement d'un régime thérapeutique mal suivi.

Bien que la présence de souches *M. bovis* MDR ait déjà été décrite dans d'autres pays provoquant parfois des épidémies principalement chez les populations immunodéprimées [11,12,13], la faible prévalence de *M. bovis* chez les tuberculeux et le faible taux de MDR à Madagascar ne prédisaient pas l'apparition d'une souche *M. bovis* MDR. Par ailleurs, les souches *M. bovis* humaines isolées à ce jour à l'IPM ont toutes été trouvées sensibles par l'Institut Pasteur à Paris (V Vincent, Centre National de Référence des Mycobactéries). Dans le cas décrit ici, le patient a reçu un régime thérapeutique de traitement long incomplet et un régime de chimiothérapie de 2<sup>ème</sup> ligne à Antsohihy, puis un second régime de retraitement à Antananarivo et enfin un régime non standardisé comprenant de l'ofloxacine. Par ailleurs, l'interrogatoire du patient a révélé que le premier traitement avait été suivi de manière anarchique, probablement à cause d'une rupture de stock de médicaments. Ceci peut expliquer l'apparition de la multirésistance de la souche aux antituberculeux.

En conclusion, bien qu'il soit rapporté ici un cas chronique isolé de tuberculose pulmonaire à *M. bovis* ayant acquis une multirésistance aux antibiotiques, ce fait soulève le problème de la prise en charge des patients à souches MDR, ainsi que la question sur l'accessibilité aux antituberculeux de seconde ligne à Madagascar et aux schémas standardisés recommandés par l'OMS pour le retraitement des patients déjà traités [9].

## REMERCIEMENTS

Nous remercions les techniciens de l'unité des mycobactéries de l'Institut Pasteur de Madagascar pour leur collaboration technique ainsi que le personnel du Pavillon Roques (CENHOSOA). Nous remercions le patient, Monsieur AE pour sa contribution.

## REFERENCES

- 1- **Rasoloho Razanamparany V, Ménard D, Rasolonalona T, Ramarokoto H, Rakotomanana F, Aurégan G, Vincent V, Chanteau S.** Prevalence of *Mycobacterium bovis* in human pulmonary and extrapulmonary tuberculosis in Madagascar. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; **3** : 632-634.
- 2- **Division Tuberculose, Service de Lutte contre la Tuberculose et la Lèpre/Ministère de la Santé.** Manuel du Programme National Tuberculose à Madagascar. 3<sup>ème</sup> éd. Antananarivo : MinSan, 2003.
- 3- **Programme mondial de lutte contre la Tuberculose. OMS, Union Internationale contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires UICTMR.** Guide pour la Surveillance de la résistance bactérienne aux médicaments antituberculeux. Paris UICTMR, 1996. (WHO/TB/96.216).
- 4- **Chanteau S, Rasoloho V, Ramarokoto H, Rasolonalona T, Ratsirahonana O, Ratsitorahina**

- M, Rakotomanana F, Boisier P, Cauchoix B, Aurégan G.** Anti-tuberculosis drug resistance in Madagascar in 1994-95. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997; **1** : 405-410.
- 5- **Ratsirahonana O, Rasolofo Razanamparany V, Rasolonavalona T, Rakotonirina V, Rakotoarisaonina A, Rakotoherisoa A, Ralamboson M, Cauchoix B, Rakotondramarina D, Ramarokoto H.** Résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux antituberculeux à Antananarivo en 2000. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 2002; **68** : 44-47.
- 6- **Canetti G, Rist N, Grosset J.** Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la méthode des proportions. *Rev Tuberc Pneumol* 1963; **27** : 217-272.
- 7- **van Embden, JDA, Cave MD, Crawford J T, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, Hermans PWM, Martin C, McAdam R, Shinnick TM, Small PM.** Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting : recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol* 1993; **31** : 406-409.
- 8- **Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, van Agterveld M, van Soolingen D, Kuijper S, Bunschoten A, Molhuizen H, Shaw R, Goyal M, van Embden JDA.** Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol* 1997; **35** : 907-914.
- 9- **Crofton J, Chaulet P, Maher D.** Principes pour la prise en charge de la tuberculose à bacilles résistants. Genève : OMS, 1997. (WHO/TB/96-210-Rev.1).
- 10- **Heym B, Cole St .** Mécanismes de résistance aux antituberculeux. *Med Therapeut* 1995; **1** : 31-37.
- 11- **Blázquez J, Espinosa de Los Monteros LU, Samper S, Martin C, Guerrero A, Cobo J, van Embden J, Baquero F, Gomez-Mampaso E.** Genetic characterization of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* strains from a hospital outbreak involving Human Immunodeficiency Virus-positive patients. *J Clin Microbiol* 1997; **35** : 1390-1393.
- 12- **Long R, Nobert E, Chomic S, van Embden J, McNamee C, Duran RR, Talbot J, Fanning A.** Transcontinental spread of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis*. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; **159** : 2014-2017.
- 13- **Riviero A, Márquez M, Santos J, Pinedo A, Sánchez MA, Esteve A, Samper S, Martin C.** High rate of tuberculosis reinfection during nosocomial outbreak of multidrug-resistant tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* strain B. *Clin Infect Dis* 200; **32** : 159-161.
-