

# Epidémiologie moléculaire par spoligotypage de l'ensemble des souches du complexe *M. tuberculosis* isolées au CHU de Lyon entre 2000 et 2004.

G. Carret, I. Frédénucchi, C. Pichat, C. Mercier, J. Thioulouse, J.P. Flandrois

## Le contexte

Organisation mondiale de la santé (statistique annuelle) :

- 8,8 millions de nouveaux cas de tuberculose dans le monde
- 140 nouveaux cas pour 100 000 habitants.
- 7,6% co-infectés par le virus de l'immuno-déficience humaine.
- 1,7 millions de décès dont 229 000 malades co-infectés par le VIH.

On estime qu'un tiers de la population mondiale, soit 2 milliards d'individus, est infecté par le bacille tuberculeux donc potentiellement susceptible d'activer ou de réactiver une primo-infection.

La tuberculose est considérée aujourd'hui comme une maladie émergente par des caractéristiques liées :

- à son incidence élevée parmi les populations migrantes,
- à l'apparition de souches multirésistantes aux antibiotiques,
- à la co-infection avec le VIH,
- à son épidémiologie parmi les populations autochtones.

Parmi les outils disponibles, la méthode dite « spoligotyping » présente un intérêt particulier par sa rapidité de mise en œuvre, par la transférabilité des résultats permettant une comparaison à l'échelle mondiale et par l'existence d'une base de données internationales.

Le polymorphisme est étudié dans une région unique du génome qui contient des répétitions directes de 36 pb séparées par des séquences variables de 35 à 41 pb (région DR). Ces séquences varient d'une souche à l'autre par leur longueur, leur séquence et leur nombre.

## Objectif principal

Décrire le polymorphisme des isolats du complexe *Mycobacterium tuberculosis* impliqués dans la tuberculose humaine pour les cas pris en charge dans le CHU de Lyon entre janvier 2000 et septembre 2004 et étudier la clonalité éventuelle des cas.

## Objectifs secondaires

- proposer et évaluer une méthode (spoligotyping) de traçage de l'infection.
- vérifier la cohérence de nos résultats avec ceux de la littérature.
- évaluer la capacité d'un clone de diffuser au sein d'une communauté.

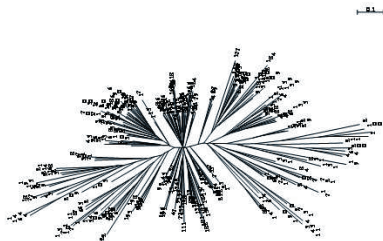
## Données démographiques

Répartition des patients par classe d'âge en fonction de leur pays de naissance

Lieu de naissance <	15	15-24	25-34	35-44	45-54	55-64	> 65
France	3	7	29	25	19	22	113
Maghreb	1	11	20	11	21	20	26
Afrique	6	20	34	18	3	6	0
Autre origine	0	9	19	12	13	4	12

distribution non aléatoire

## Un polymorphisme certain



## Matériel et méthodes

### Patients

La totalité des patients du CHU pour lesquels un diagnostic de tuberculose a été porté ou confirmé, entre janvier 2000 et septembre 2004, par isolement d'une bactérie appartenant au complexe *M. tuberculosis* a été incluse dans l'étude. Les données démographiques ont été obtenues par consultation du dossier administratif de chaque patient et les données cliniques ont été obtenues par entretien avec les cliniciens ayant pris en charge ceux-ci.

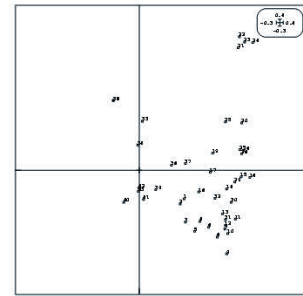
### Spoligotyping

La région a été amplifiée grâce à deux amorces extérieures à partir d'un lysat cellulaire utilisé comme source d'ADN, puis hybridée à une membrane sur laquelle sont fixées les 43 séquences inter DR les plus fréquentes et discriminantes.

## Données microbiologiques

484 souches  
221 spoligotypes  
171 spoligotypes uniques  
50 spoligotypes « partagés » rencontrés entre 80 et 2 fois

Etude du polymorphisme par ACP : quelles sont, parmi les 43 séquences, celles qui expliquent l'homogénéité ou l'hétérogénéité des isolats ?



## Comparaison avec les données de la littérature (quelques exemples)

Sondes 33 - 34 - 35 - 36  
Absence simultanée : 189/221 (428 souches)  
Présence simultanée : 7/221 (18 souches)  
Filliol et al : règles B, C, E, F (nombreux clades, nombreuses souches)

Sondes 41 - 42 - 43  
Absence simultanée : 14/221 (27 souches)  
Présence simultanée : 193/221 (440 souches)  
Filliol et al : règle D (spo 482, spo 481, ...) et réciproque (nombreux clades, nombreuses souches)

Sondes 21 - 22 - 23 - 24  
Absence simultanée : 63/221 (117 souches)  
Présence simultanée : 108/221 (300 souches)  
Filliol et al : règle B + F (famille LAM) 58/63 (101 souches)

## Spoligotypes rencontrés

Présents dans SpolDB3 (base internationale)  
- 98  
- 54 uniques  
- 354 souches

Absents dans SpolDB3 (base internationale)  
- 123  
- 117 uniques  
- 130 souches

## Répartition des spoligotypes les plus fréquents (nomenclature SpolDB3) par pays de naissance des patients

	53	50	42	47	1	62	61
France	47	19	3	7	2	6	2
Maghreb	19	10	13	5	1	4	0
Afrique	5	2	0	3	1	1	8
Autre origine	9	3	4	4	7	0	0

distribution non aléatoire

## Discussion - Conclusion

- La tuberculose est une maladie du sujet âgé pour la population autochtone.
- La tuberculose est une maladie de l'adulte pour la population immigrante.
- Le polymorphisme des isolats est confirmé.
- Le polymorphisme peut être décrit par la présence ou l'absence de groupe de séquences.
- Il existe une distribution géographique des spoligotypes.
- Nos données sont cohérentes avec celles de la littérature.
- L'outil est validé mais la clonalité ne peut pas être étudiée.

## Perspectives : Observatoire Rhône-Alpes des Mycobactéries

- Elargir le recrutement à Rhône-Alpes
  - CHU de Lyon
  - CHU de Grenoble (M. Maurin)
  - CHU de St Etienne (A. Carricajo, B. Pozzetto)
  - Laboratoire M. Mérieux (G. Chyderiotis)
  - CH de Chambéry (J. Tous)
- Compléter le typage (MIRU-VNTR)
- Etude prospective
- Exhaustivité des patients

## Bibliographie

- Sola et al - Spoligotype database of *Mycobacterium tuberculosis*: biogeographic distribution of shared types and epidemiologic and phylogenetic perspectives. *Emerging Infectious diseases*, 2001, 7, 390-396
- Filliol et al - Global distribution of *Mycobacterium tuberculosis* spoligotypes. *Emerging Infectious diseases*, 2002, 8, 1347-1349