

I INTRODUCTION GENERALE

La TB, dont l'agent étiologique principal chez l'homme est *M. tuberculosis*, demeure actuellement la principale cause de décès dans le monde au même rang que le VIH-SIDA (WHO, 2015). Un quart de la population mondiale est estimé infecté par *M. tuberculosis* et le nombre de cas de TB ne cesse d'augmenter chaque année (WHO, 2015). D'après les estimations de l'OMS, la TB a tué 1,4 millions de personnes dont 400 000 VIH-positives en 2015 et 10,4 millions de personnes auraient contracté la TB (nouveaux cas) dont 12% de VIH-positives.

L'émergence des souches MR et UR, l'apparition des souches TDR, ainsi que la co-infection par le VIH/SIDA compliquent la lutte contre la TB. Quatre cent vingt mille cas de TB étaient estimés MR en 2014 dont 3,3% parmi les nouveaux cas de TB et 20% parmi les cas de TB déjà traités.

A Madagascar, pour environ 23 millions d'habitants en 2013, on compte environ 413 cas de TB pour 100000 habitants, 233 nouveaux cas de TB pour 100000 habitants et 12000 décès par la TB. La prévalence du VIH-SIDA est de 0,37% en 2010 (RASA, 2012) et le taux de coïnfection de TB-VIH SIDA est de 2% parmi les cas de TB. Le taux de TB-MR parmi les nouveaux cas est de 0,5% et le taux parmi les cas ayant déjà été traités auparavant est de 3,9% (WHO, 2015).

L'OMS recommande un régime composé de plusieurs antibiotiques dont la prise par le patient est directement observée (DOTS) pour le traitement de la TB. Selon l'état de sensibilité des souches tuberculeuses ou de l'état des patients, ce traitement peut varier. Une forte proportion des nouveaux cas de TB sensible aux antituberculeux sont guéri par ce traitement.

Des études utilisant des outils d'analyse spatiale intégrant le Système d'Information Géographique (SIG) ont démontré que les cas de TB étaient regroupés spatio-temporellement dans certains pays et certaines régions du monde (Kistemann *et al.*, 2002; Moonan *et al.*, 2004; Munch *et al.*, 2003) et aussi particulièrement à Antananarivo, la capitale de Madagascar (Rakotosamimanana *et al.*, 2014; Randremanana *et al.*, 2009; Randremanana *et al.*, 2010). Ces agrégations sont aussi connues sous l'appellation de clusters spatiaux de cas de TB. Ces

clusters spatiaux de cas de TB suggèrent que les zones touchées par ces fortes concentrations de cas de tuberculeux peuvent aussi être des zones à forte transmission de TB.

De son côté, l'épidémiologie moléculaire s'est révélée utile pour la surveillance de la TB. Le développement et l'essor d'outils de génotypage ont révolutionné ces types d'études mais aussi l'identification et la classification des souches tuberculeuses. Ces études ont démontré la grande diversité des souches de BK circulant dans le monde mais aussi la circulation de toutes les familles de souches existantes à Madagascar (Demay *et al.*, 2012; Ferdinand *et al.*, 2005; Rasolofo-Razanamparany *et al.*, 1994).

Des études associant analyses spatiales et génotypage ont aussi été menées pour identifier les zones de transmission active de la TB (Gurjav *et al.*, 2015; Izumi *et al.*, 2015; Moonan *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2015; Séraphin *et al.*, 2016; Zelner *et al.*, 2015).

Par ailleurs, les outils de diagnostic de la TB et de la sensibilité aux antituberculeux ont beaucoup évolué en passant des techniques classiques (microscopie et culture) aux techniques moléculaires, beaucoup plus rapides et pratiques avec des sensibilités et spécificités appréciables.

Toutefois, malgré l'essor des outils en matière de lutte contre la TB, ainsi que l'existence d'une thérapie efficace, le nombre de cas de TB et le taux de mortalité par la TB demeure encore inacceptablement élevé surtout dans les pays en voie de développement comme Madagascar. Ceci est dû en partie à plusieurs facteurs :

- L'efficacité partielle du seul vaccin disponible actuellement contre la TB, le bacille de BCG (Bacille de Calmette et Guérin). Le vaccin peut prévenir des complications graves de la TB chez les enfants mais son efficacité dans la prévention de la TB pulmonaire chez les adultes est très controversée ;
- L'infection avec le VIH/SIDA favorise le développement de la TB. L'épidémie de VIH/SIDA a été à l'origine de la réémergence de la TB dans les années 80 dans les pays africains. De plus, l'existence d'interactions médicamenteuses entre le traitement utilisé contre les deux maladies, notamment entre la RIF et de nombreux retroviraux complique le traitement des patients ;

- Le niveau de vie de la population et le manque d'accès aux soins favorisent le développement ainsi que la transmission des maladies infectieuses ;
- La non identification des souches circulantes dans certaines zones ne permet pas de déterminer le niveau de transmission des souches tuberculeuses et l'échelle à laquelle se font les transmissions de TB (entre voisins ou entre des personnes de résidence éloignées). Cela ne permet également pas l'identification des infections avec les souches reconnues relativement plus virulentes que d'autres telles que les souches avec les spoligotypes « Beijing » ainsi que les sources de transmission de la TB.
- L'inexistence ou la non performance des systèmes de surveillance de la TB qui ne permet pas d'identifier les zones clefs pour la lutte contre la TB. La surveillance de la TB dans la plupart des pays du monde repose encore actuellement sur des méthodes d'épidémiologie classique basée sur la récolte des données épidémiologique sur les patients. Ces méthodes sont lourdes, longues et sont biaisés par la subjectivité de réponses fournies pendant les enquêtes. Ce type de surveillance est efficace pour retrouver dans la majorité des cas, et en rétrospective, les facteurs liés à l'émergence de la maladie. Cependant, ces systèmes ne permettent pas de faire de ces méthodes des outils d'alerte à l'épidémie due à la lenteur de leur exécution. Elles ne permettent donc pas non plus de constituer des outils d'aide à la décision pour les priorités et les urgences en matière de lutte contre la TB.

Devant ces deux derniers facteurs non négligeables limitant la lutte contre la TB, la présente étude s'est proposé comme objectif principal : d'étudier la distribution et la dynamique de la TB ainsi que des BK au cours du temps et dans l'espace afin d'avoir un aperçu de l'état actuel de la TB dans le pays, du niveau de la transmission de la TB à Madagascar, du niveau d'évolution de la TB et des BK malgaches ainsi que l'identification les sources potentielles de la TB en commençant par la capitale.

Pour cela, différentes étapes et approches ont été faites :

1. Etudier la diversité génétique des souches circulant récemment à Madagascar. Cela implique d'identifier et de décrire les souches circulantes actuellement à Madagascar, d'avoir un aperçu de l'échelle globale de transmission des souches *M. tuberculosis* à Madagascar actuellement et d'identifier les origines potentielles de la TB à Madagascar.
2. Etudier la diversité d'une souche caractéristique et endémique de Madagascar, le SIT109. Cela permet d'estimer plus précisément l'échelle à laquelle se fait la transmission

de la TB au niveau d'une souche ainsi que le niveau et la vitesse d'évolution des souches tuberculeuses à Madagascar.

3. Développer un outil d'identification des zones à fort risque de transmission de la TB à Antananarivo, la capitale de Madagascar, en associant des méthodes d'analyse spatiale et des méthodes de génotypage. Cet outil pourrait servir de système de surveillance rapide, plus facile, plus accessible de la TB et un outil d'aide à la décision en matière de lutte contre la TB à Madagascar.

II GENERALITES

II.1 GENERALITES SUR LA TUBERCULOSE

II.1.1 QU'EST-CE QUE LA TUBERCULOSE ?

La tuberculose (TB) est une maladie infectieuse contagieuse dont la transmission est interhumaine et se fait par voie aérienne. La TB est une maladie mortelle mais curable qui constitue jusqu'à nos jours l'une des maladies les plus meurtrières dans le monde et particulièrement dans les pays en voie de développement (WHO, 2015). La TB humaine est due principalement à un nombre limité de variants d'une espèce de *Mycobactéries* regroupés sous l'appellation de « Complexe *Mycobacterium tuberculosis* » (MTBC) dont la plus importante est *Mycobacterium tuberculosis* connue aussi sous l'appellation de BK pour « Bacille de Koch ». Cette dernière cause la majorité des cas de TB humaine. L'homme demeure actuellement le principal réservoir naturel de *M. tuberculosis* (Van Soolingen *et al.*, 1997), mais la maladie touche également de nombreuses espèces animales. Les poumons sont à la fois la porte d'entrée des bacilles tuberculeux et l'organe de prédilection pour le développement de la maladie.

II.1.2 HISTOIRE ET DATES MARQUANTES DE LA TB

La TB est l'une des maladies les plus anciennement connues par l'homme. Elle a déjà été mentionnée dans les textes des médecines grecque, chinoise, égyptienne et indienne datant de plus de 2000 ans (Daniel, 2005; Daniel, 2006). L'analyse d'échantillons de momies égyptiennes humains datant de 4400 ans avant aujourd'hui (2050-1650 BC) a démontré la présence de souches de *M. africanum* (Zink *et al.*, 2003).

Trois formes principales de maux ont été désignées par les historiens comme étant de la TB : le « mal de Pott » défini par des séquelles caractéristiques au niveau des vertèbres (Crubézy *et al.*, 1998), les scrofules correspondant à des ganglions infectés au niveau du cou avec écoulement de pus et la TB pulmonaire dont des épidémies à grande échelle ont été identifiées au XVII^{ème} siècle. La maladie portait au XVII^{ème} et XVIII^{ème} siècle les noms de « phtisie pulmonaire » ou de « consommation » qui signifient respectivement amaigrissement excessif et décharnement (Aronowitz, 2004).

En 1865, le médecin Jean-Antoine Villemin démontra expérimentalement le caractère contagieux de la TB. Il démontra la transmission de la maladie à des lapins inoculés avec des broyats de lésions tuberculeuses humaines et bovines (Major, 1945).

Plus tard, en 1882, le microbiologiste allemand Heinrich Hermann Robert Koch a mis en évidence le lien existant entre la TB humaine et l'agent pathogène *M. tuberculosis* aussi dénommé Bacille de Koch (Major, 1945).

Les premières thérapies médicamenteuses commencèrent en 1944. Cette étape marqua une étape très importante dans l'histoire de la TB. Des composés tels que le sanocrysin (sel d'or proposé par Robert Koch), la vitamine D, des sulphones dont les efficacités n'ont jamais été prouvées ont été testées au tout début des thérapies antituberculeuses (Benedek, 2004; Dutau, 2005). L'activité antituberculeuse de la streptomycine (SM) fut mise en évidence plus tard et Lehman réalisa la synthèse de l'acide para-amino salicylique (PAS). Cette même année fut également marquée par l'identification des premiers cas de résistance à la streptomycine (McDermott *et al.*, 1947; Youmans *et al.*, 1947). L'isoniazide (INH) fut découvert par Domagk en 1952 et la rifampicine (RIF) en 1967. La RIF et l'INH deviendront les deux antituberculeux piliers de la lutte contre la TB plus tard. En 1980, la Pyrazinamide (PZA) fut introduite dans le schéma thérapeutique de base de la TB et une multi-thérapie combinée avec la RIF et l'INH permit d'obtenir la guérison de plus de 95% des patients avec une durée de traitement de 6 mois (Webb et Davies, 1998). L'évolution du traitement de la TB ainsi que les découvertes sont récapitulées dans la figure 1.

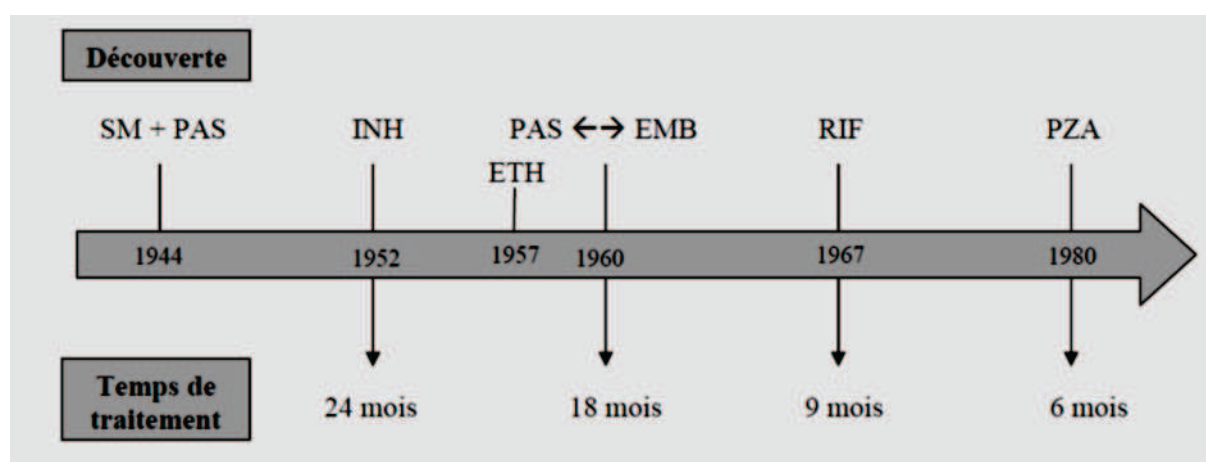


Figure 1: Découverte des antituberculeux et évolution du traitement de la TB au cours du temps

L'épidémie de VIH/SIDA a été à l'origine de la réémergence de la TB dans les années 1980, notamment dans les pays africains (Corbett *et al.*, 2003; Dye *et al.*, 2005). Une synergie existe entre l'infection par le VIH-SIDA et l'infection par la TB. En effet, l'infection par le VIH favorise l'évolution d'une TB latente en TB maladie active alors que *M. tuberculosis* stimule les répliquions du virus VIH et l'évolution naturelle du SIDA (Lesprit et Molina, 1996).

II.1.3 EPIDEMIOLOGIE DE LA TB DANS LE MONDE (WHO, 2015)

Malgré les progrès de la lutte contre la TB et le potentiel de guérison de tous les cas de TB, la maladie figure désormais au même titre que le VIH-SIDA parmi les principales causes de décès dans le monde (WHO, 2015). D'après les estimations de l'OMS, la TB a tué 1,5 millions de personnes dont 400000 VIH-positives en 2014. 9,6 millions de personnes auraient contracté la TB en 2014 dont 12% de VIH-positives (WHO, 2015).

II.1.3.1 DISTRIBUTION MONDIALE DES CAS DE TB

Sur les 9,6 millions de nouveaux cas enregistrés en 2014, 58% proviennent des régions de l'Asie du Sud-Est et du Pacifique occidental. La région africaine comptabilisait 28% des cas avec la plus lourde charge par rapport à sa population (281 cas pour 100000 habitants), soit plus du double de la moyenne mondiale de 133 cas pour 100000 habitants. L'Inde, l'Indonésie et la Chine comptaient le plus grand nombre de cas : 23%, 10% et 10% respectivement du total mondial (figure 2). Un quart de la population mondiale est estimé être infecté par *M. tuberculosis*.

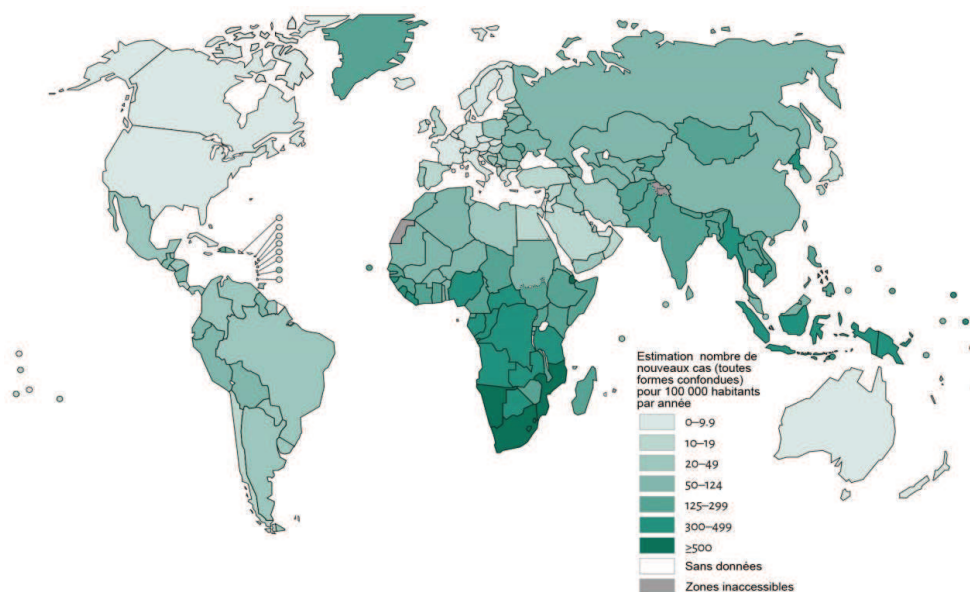


Figure 2: Incidence de la TB dans le monde en 2014

**Incidence estimée en nombre de nouveaux cas par 100000 habitants par année*

II.1.3.2 EMERGENCE DES CAS DE RESISTANCE

Les facteurs pouvant expliquer l'émergence et la propagation des souches pharmaco-résistantes sont l'utilisation de traitements inappropriés, la mauvaise observance de ces traitements ou encore l'utilisation de médicaments de mauvaise qualité (WHO, 2001). Les souches MR définies comme des souches résistantes à au moins l'INH et à la RIF, sont plus complexes à traiter et nécessitent des traitements plus longs (jusqu'à 2 ans) et plus onéreux (jusqu'à 100 fois le prix d'un traitement d'une souche sensible) avec une efficacité réduite. (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/fr/print.html>).

En 2014, 480000 cas de TB ont été estimés MR dont un quart seulement ont été détectés et notifiés. 3,3% des nouveaux cas de TB (figure 3) et 20% des patients traités précédemment sont atteints de la TB-MR. 190000 décès ont été estimés dus à la TB-MR. Plus de la moitié des cas de TB-MR (54%) provient de l'Inde, de la Chine et de la Fédération de Russie.

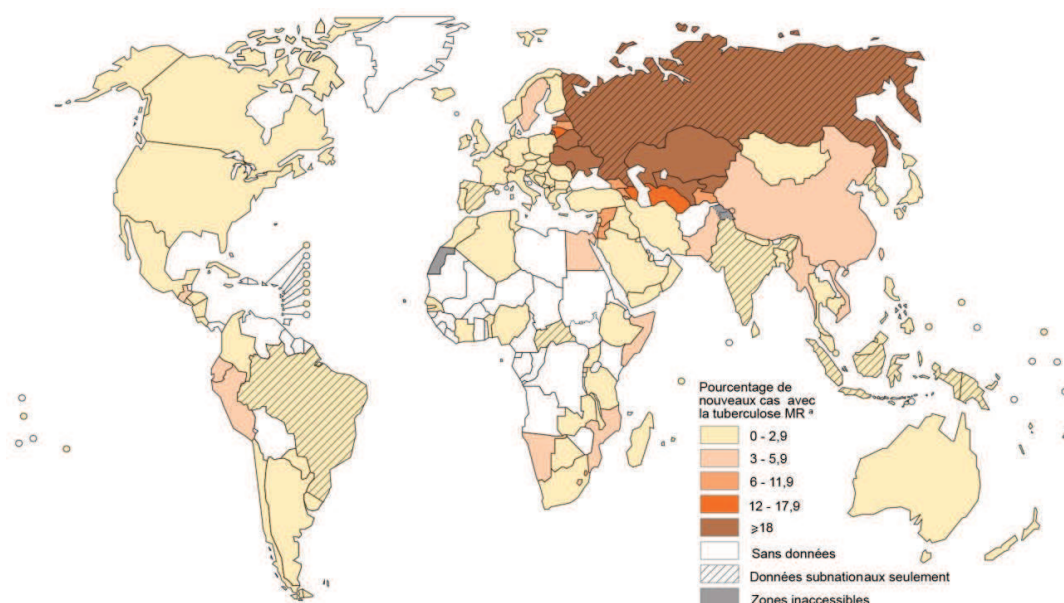


Figure 3: Distribution des nouveau cas de TB MR en 2014

La TB Ultrarésistante (TB-UR), définie comme à la fois MR et résistante aux fluoroquinolones et à un antibiotique de seconde ligne injectable (aminoglycoside ou capréomycine) (CDC, 2006; Jassal et Bishai, 2009) a été signalée dans 105 pays en 2015. 9,7% des cas de TB-MR sont UR.

II.1.3.3 EVOLUTION DE LA TB MONDIALE

Entre 1990 à 2015, la mortalité par TB a diminué de 47%. 43 millions de vies ont été sauvées entre 2000 et 2014 suite à des diagnostics et des traitements plus efficaces. L'objectif consistant à réduire de moitié le taux de mortalité par la TB en 2015 par rapport en 1990 a été atteint dans 4 régions de l'OMS : Amériques, Méditerranée occidentale, Asie du Sud-Est et Pacifique occidental ; ainsi que dans 11 pays à forte charge : Brésil, Cambodge, Chine, Ethiopie, Inde, Myanmar, Ouganda, Pakistan, Philippines, Viet Nam et Zimbabwe.

L'incidence mondiale de la TB a diminué en moyenne de 1,5% par an depuis l'an 2000 et est estimée à 18% inférieure à son niveau depuis cette année. La prévalence mondiale de la TB en 2015 était de 42% inférieure à son niveau de 1990. La prévalence réduite de moitié comparée aux données de 1990 a été atteinte pour 3 régions de l'OMS : Amériques, Asie du Sud-Est et Pacifique occidental ; ainsi que dans 9 pays à forte charge : Brésil, Cambodge, Chine, Ethiopie, Inde, Myanmar, Ouganda, Philippines et Viet Nam.

II.1.4 L'OMS ET LES MOYENS ET STRATEGIES DE LUTTE CONTRE LA TB

En 1995, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a mis en place une stratégie de lutte contre la TB reposant sur le traitement chimio-prophylactique standardisé de courte durée des patients ou stratégie DOTS « Directly Observed Treatment of Short-course » (Corbett et Ravaglione, 2004). Cette stratégie repose sur la supervision des professionnels de la santé, de la prise des antituberculeux par les patients et sur leur soutien (conseils, informations) pour s'assurer du bon déroulement et du succès d'un traitement relativement long. L'objectif de l'OMS pour la stratégie DOTS dans les années 1995 à 2000 était la détection de 70% des cas de TB et la guérison de 85% d'entre eux.

En 2001, l'OMS décide de renforcer la stratégie DOTS et lance le plan mondial « Halte à la TB » visant « un monde sans TB » et dont l'objectif principal est de réduire drastiquement l'incidence de la maladie dans le monde d'ici 2015. La TB sera considérée comme éradiquée lorsque son incidence passera en dessous du seuil de un cas pour 100 000 habitants par an (WHO, 2010).

À partir de 2016, le but de l'OMS est de mettre un terme à l'épidémie mondiale de la TB. Adoptée par l'Assemblée mondiale de la Santé en mai 2014 et assortie de cibles liées aux nouveaux objectifs de développement durable, la Stratégie propose aux pays des pistes pour réduire le nombre de décès par TB de 90 % d'ici à 2030 (par rapport au niveau de 2015), réduire le nombre de nouveaux cas de 80 % et faire en sorte qu'aucune famille ne supporte de coûts catastrophiques liés à la TB (WHO, 2015).

II.2 LE DIAGNOSTIC DE LA TB ET L'IDENTIFICATION DES MYCOBACTERIES

Plusieurs méthodes de diagnostic de la TB et d'identification des mycobactéries avec différents niveaux de sensibilité et spécificité sont utilisées actuellement. Les méthodes de diagnostic reposent sur l'examen microscopique direct à partir de prélèvements biologiques, sur la mise en évidence de bacilles dans ces prélèvements par la culture ou par des tests utilisant la biologie moléculaire à partir d'ADN ou encore des tests immunologiques. Les méthodes d'identification reposent sur l'aspect morphologique des colonies à partir de la culture ou sur des tests biochimiques ou encore des tests moléculaires. Certains tests

moléculaires servent à la fois de test de diagnostic de la TB et de test d'identification des mycobactéries. Quelques tests les plus fréquemment utilisés ainsi que les tests de références sont cités ci-après :

II.2.1 LES TESTS DE DIAGNOSTIC

II.2.1.1 L'EXAMEN DIRECT PAR MICROSCOPIE

En cas de suspicion de TB pulmonaire, à partir des signes cliniques d'un patient, des examens bactériologiques sont pratiqués sur l'expectoration du malade. Ils peuvent aussi être pratiqués sur des tubages gastriques (sécrétions bronchiques dégluties) ou des aspirations bronchiques. Pour les patients tuberculeux avec une localisation extra-pulmonaire soupçonnée, les prélèvements (biopsie) sont faits en fonction de la localisation de la maladie.

Un frottis, ou étalement du prélèvement biologique sur lame mince est effectué, puis coloré afin de mettre en évidence la propriété d'acido-alcool résistante spécifique des mycobactéries. Deux méthodes de coloration sont utilisées : la coloration de Ziehl-Neelsen, ou la coloration à l'auramine (fluorochrome) (figure 4). L'examen direct ne permet de détecter la présence des bacilles acido-alcool résistants (BAAR) dans un prélèvement biologique qu'à partir de 0,5 à 1,1 bactéries par microlitre de prélèvement biologique (Saltini, 2006).

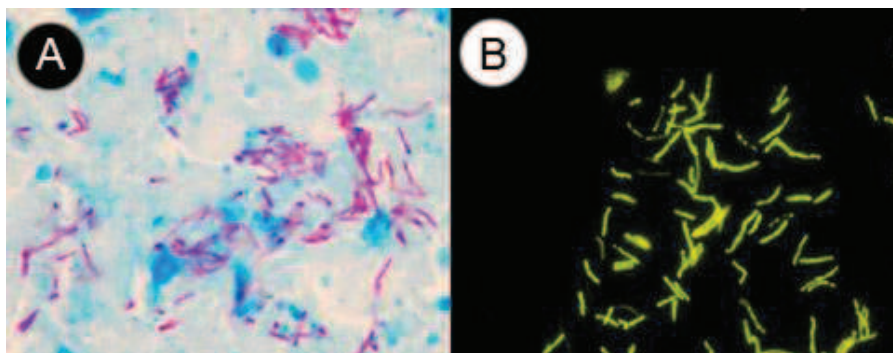


Figure 4: Observation microscopique de frottis faisant apparaître des BAARs par la coloration de Ziehl-Neelsen (A) et par la coloration à l'Auramine O (B)

Source : <http://ntcc.ucsds.edu> (Margaret A. Barlet, Ph. D, MT (ASCP) SM, Diplomat A.B.M.M., Medical Technology Program, University of Arkansas for Medical Sciences). Modification sur adobe Photoshop CS6