



## Profil Phénotypique et génotypique des souches de *Mycobacterium tuberculosis* résistants aux antituberculeux des contacts familiaux versus cas- index à Kinshasa, en République démocratique du Congo

### *Phenotypic and genotypic profile of strains of Mycobacterium tuberculosis resistant to antituberculosis drugs of household contacts versus index cases in Kinshasa, Democratic Republic of Congo*

Marie José Bajani Kabedi<sup>1</sup>, Steve Mundeke Ahuka<sup>1</sup>, Octavie Metila Lunguya<sup>1</sup>, Jean Marie Ntumba Kayembe<sup>2</sup>, Hippolyte Nani Tuma Situakibanza<sup>2</sup>, Serge Fueza Bisuta<sup>2</sup>, Nicolas Kalulu Taba<sup>3</sup>, Paulin Mbaya<sup>1</sup> et Jean Jacques Tamfumu Muyembe<sup>1</sup>

#### Auteur correspondant

Marie José Bajani Kabedi, MD

Téléphone : +243998295595

Courriel : [bedye2001@yahoo.fr](mailto:bedye2001@yahoo.fr)

Service de Microbiologie, Cliniques Universitaires de Kinshasa, Université de Kinshasa, Kinshasa, RD Congo

#### Summary

*Context and objective.* Drug-resistant tuberculosis (DR-TB) has a major impact on patient treatment outcomes. The strategies put in place for its control involve early diagnosis and appropriate treatment of patients. The objective of the present study was to determine the phenotypic and genotypic profile of *Mycobacterium tuberculosis* strains from family contacts and their index cases in Kinshasa, Democratic Republic of Congo (DRC).

*Methods.* This was a descriptive cross-sectional study that took place in Kinshasa (DRC) from July 2011 to August 2017. It consisted in analyzing strains of *M. tuberculosis* from family contact cases and their index cases. The strains were isolated on the Löwenstein-Jensens (LJ) medium, the antibiogram was carried out by the technique of proportions and the genotyping by Spolypotyping. *Results.* Thirty strains of *M. tuberculosis* (34.1%) out of 88 isolated from Multidrug-resistant TB (MDR-TB) contacts and their index cases were analyzed. The median age of patients was  $31 \pm 13.55$  years with extremes ranging from 4 to 78 years. Two strains from a contact case had a different genotypic profile from the index case whereas 13 showed a profile identical to that of the index case. A diversity of lineages was noted. Regarding the phenotypic profile, a strain of the case-contact showed a different profile from the index case, notably the Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB) and the pre-XDR-TB.

#### Résumé

*Contexte & objectif.* L'émergence de la tuberculose pharmacorésistante (TB-PR) est un véritable défi pour la lutte contre la tuberculose. Les stratégies mises en place pour son contrôle impliquent un diagnostic précoce et le traitement adapté des patients. La présente étude avait pour objectif de déterminer le profil phénotypique et génotypique des souches de *Mycobacterium tuberculosis* (*M.t*) issus des contacts familiaux et leurs cas-index.

*Méthodes.* Il s'agissait d'une étude transversale à visée descriptive qui s'est déroulée à Kinshasa (RDC) de juillet 2011 à août 2017. Elle a consisté à analyser des souches de *M.t* provenant des cas-contacts familiaux en comparaison aux cas-index. Les souches ont été isolées sur le milieu de Löwenstein-Jensens (LJ), l'antibiogramme était réalisé par la technique des proportions et le génotypage par Spolypotyping. *Résultats.* Trente souches de *M.t* (34,1%) sur 88 isolées de contacts TB-MR et leurs cas-index ont été analysées. L'âge médian des patients était de  $31 \pm 13,55$  ans (extrême 4 et 78 ans). Deux souches provenant d'un cas-contact avaient un profil génotypique différent du cas-index. Tandis que 13 ont montré un profil identique à celui du cas-index et on a noté une diversité des lignées. S'agissant du profil phénotypique, une seule souche du cas-contact était différente du cas-index (XDR-TB et preXDR-TB).

#### Conclusion

L'enquête a montré la circulation de formes compliquées de la TB avec une diversité des souches génotypiques chez les contacts familiaux comme chez les cas-index.

**Mots-clés :** Profil, phénotypique et génotypique, *Mycobacterium tuberculosis*, résistance antituberculeuse, cas-contact et index

<https://dx.doi.org/10.4314/aamed.v16i3.2>

Reçu le 6 mars 2023

Accepté le 2 mai 2023



### Conclusion

The survey showed the circulation of complicated forms of TB with a diversity of genotypic strains in contacts as well in index cases.

**Keywords:** Profile, phenotypic and genotypic, *Mycobacterium tuberculosis*, antituberculous resistance, case-contact and index

<https://dx.doi.org/10.4314/aamed.v16i3.2>

Received: March 6<sup>th</sup>, 2023

Accepted: May 2<sup>nd</sup>, 2023

1. Département de Biologie Médicale, CUK, Faculté de Médecine, UNIKIN
2. Département de Médecine interne, CUK, Faculté de Médecine, UNIKIN
3. Département de Chimie organique, Faculté des Sciences et Technologies, UNIKIN

### Introduction

La tuberculose Pharmacorésistante (TB-PR) est un problème réel de Santé Publique (1-3). Elle est, généralement, la conséquence de l'utilisation irrationnelle des antituberculeux qui conduit à l'émergence des souches *Mycobacterium tuberculosis* (*Mt*) résistantes (1-4). La propagation de ces souches dans la population est un grand défi pour le programme de lutte antituberculeuse mondiale avec un risque de saper les efforts de lutte contre la tuberculose (TB) déjà consentis (1-2). Etant donné que la TB se transmet par la voie flüggienne, les personnes de l'entourage proche des patients porteurs des souches TB-PR, sont les plus exposées au risque d'infection tuberculeuse, bien que toutes les personnes en contact avec un malade atteint de TB contagieuse n'aient pas toutes la même susceptibilité vis-à-vis de l'infection et de la maladie (3-5).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la charge de la TB-PR avait augmenté de 3 % entre 2020 et 2021. Elle était estimée à 465 000 nouveaux patients (NP) TB résistante à la rifampicine (TB-RR) (1). La République Démocratique du Congo (RDC) n'est pas épargnée par ce fléau. Elle fait partie des 30 pays ayant la lourde charge de TB-PR. En 2021,

selon les données du Programme National de Lutte contre la TB (PNLT), 1413 cas sur 3532 attendus (40 %) ont été notifiés (1). Cependant, certaines souches de *Mt* sont reconnues virulentes et intervenantes dans la transmission de la résistance avec un impact majeur sur les issues thérapeutiques (5-6). C'est ainsi que le génotypage des souches joue un rôle important pour des fins de surveillance en permettant le traçage de la chaîne de transmission de la TB. Plusieurs études ont démontré le lien existant entre certaines lignées en circulation et la résistance des souches de *Mt* avec des conséquences néfastes sur la prise en charge thérapeutique des malades et risque de transmission de bacilles résistants aux sujets vivant dans l'entourage des patients quoique la contamination peut aussi se produire en dehors du toit (6-8). Ainsi, l'identification de la souche du contact est utile pour déterminer si elle est épidémiologiquement liée à celle du cas-index pour de raisons de traçabilité moléculaire et pour instaurer un traitement adapté aux cas dépistés (6-8). Il est donc crucial de briser la chaîne de transmission en identifiant rapidement et en traitant les cas de TB active et les cas d'infection tuberculeuse latente, et en s'assurant que le traitement soit adapté au cas afin d'améliorer le pronostic vital (4-8). A cet égard, le diagnostic et le traitement précoces de la TB-PR chez les cas-contacts reste un défi pour diminuer le taux de morbidité due à la TB et ses formes compliquées. Ainsi, la présente étude avait comme objectif de déterminer le profil phénotypique et génotypique des souches isolées chez les contacts familiaux et leurs cas-index TB-PR.

### Méthodes

#### *Type, période, cadre, population et échantillonnage*

Il s'agissait d'une étude transversale à visée descriptive qui s'est déroulée à Kinshasa (RDC) de juillet 2011 à août 2017. Elle a porté sur les souches isolées à partir des échantillons des cas-contacts familiaux et leurs cas-index. Parmi eux, seulement les souches TB-PR ont été incluses et analysées.

#### *Analyses de laboratoire et interprétation des résultats*

Les souches ont été isolées sur le milieu de Löwenstein-Jensens (LJ) et identifiées par les tests biochimiques. L'antibiogramme était effectué par la technique des proportions (9). Les souches de *M.t* étaient mises dans les cryotubes contenant le milieu LJ et conservées à -80°C. Ces cryotubes ont été placés dans le cryoboxe et acheminés à l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (IMT) pour réaliser le test de Spoligotyping (10). Ce test est fondé sur la détection de polymorphismes de l'ADN présents sur le locus DR (*direct repeat region*) de *M.t* et correspondant à des séquences répétées de 36 paires de base séparées par des séquences de 31 à 41 paires de bases (*spacers*) (10).



**Article original**

Ce test est fondé sur la détection de polymorphismes de l'ADN présents sur le locus DR (*direct repeat region*) de *M.t* et correspondant à des séquences répétées de 36 paires de base séparées par des séquences de 31 à 41 paires de bases (*spacers*) (10). Les souches de *M.t* résistants, ont été génotypées en se basant sur l'étude de polymorphisme du locus DR (spoligotypage) (10). Ce locus est constitué de courtes séquences d'ADN répétées et identiques appelées DR, séparées les unes des autres par des séquences d'ADN non répétitives et uniques appelées inter-DR ou espaceurs (10). Le locus DR est amplifié par PCR obtenus et vont être hybridés sur une membrane où sont fixés les 43 inter-DR (10). Tout inter-DR présent dans le locus amplifié par PCR va se fixer à sa copie située sur la membrane (10). La fixation ou non des inter-DR à leur copie est révélée par chémoluminescence sur film photographique. Le spoligotype ainsi obtenu traduit la présence ou l'absence de chacun des 43 inter-DR étudiés (10). Et donc, l'empreinte génétique par spoligotypage repose sur l'étude de la présence ou de l'absence d'une sélection de 43 espaceurs (10). Le pattern original lu sur le film photographique est d'abord converti en binaire. Les points noirs attestent d'une présence d'espaceur et sont symbolisés par un 1 alors que les absences sont représentées par 0. Le format binaire se compose d'une série de 1 et de 0. Pour le passage du binaire à l'octal, les 43 caractères sont divisés en 14 groupes de 3 caractères et un groupe de 1 caractère (10). On applique ensuite aux groupes de 3 caractères le codage suivant : 000 = 0; 001 = 1; 010 = 2; 011 = 3; 100 = 4; 101 = 5; 110 = 6; 111 = 7 (10). Le dernier groupe qui se compose d'un seul caractère, garde sa valeur 0 ou 1(10). Au final, le code octal se compose de 15 caractères dont la valeur est comprise entre 0 et 7(10). Les lignées génétiques des souches de *M. t* ont été désignées en se basant sur les profils de spoligotypage suivant les règles décrites dans SpolDB4 et réactualisées dans SITVIT-WEB (10).

**Définitions opérationnelles**

Les définitions ci-après ont été utilisées dans la présente étude.

TB-PR : Tuberculose (TB) dans laquelle les bacilles de *Mycobacterium tuberculosis* résistent aux antituberculeux usuels,

TB-MR: Tuberculose à bacilles résistants au moins à la rifampicine et à l'Isoniazide,

TB-RR: Tuberculose résistante à la rifampicine avec ou sans résistance aux autres antituberculeux,

PreXDR : souches TB-MR avec une résistance soit à une fluoroquinolone, soit à un de trois médicaments injectables de deuxième intention,

XDR-TB: souches TB-MR avec une résistance additionnelle à une fluoroquinolone et à au moins un des trois médicaments injectables de deuxième intention (kanamycine, amikacine et capréomycine),

Un contact familial : une personne ayant partagé le même espace de vie fermé que le cas-index pendant une ou plusieurs nuits ou pendant des périodes fréquentes ou prolongées de la journée au cours des trois mois précédant le début du traitement actuel,

Cas index : un patient atteint de tuberculose maladie et à l'origine de l'infection du ou des cas secondaires ou des contacts.

**Analyses statistiques**

Les données ont été analysées en utilisant le logiciel SPSS version 23 en recourant essentiellement aux analyses descriptives. La comparaison des proportions était réalisée à l'aide du test du Khi-carré de Pearson ou Exact de Fischer le cas échéant et par contre la significativité des résultats a été appréciée au seuil de 5 % de probabilité.

**Considérations éthiques**

L'étude avait reçu l'approbation du Comité d'Éthique de l'École de Santé Publique de l'Université de Kinshasa (N° ESP/CE/081/2010). Le consentement écrit des patients ou de leur tuteur était obtenu.

**Résultats**

Trente souches (15 issues des cas-index et 15 des cas contacts) de *Mt* (34,1%) sur 88 isolées de contact TB-MR et leur cas-index ont été analysées. L'âge médian des patients était 31±13,55 ans avec les extrêmes allant de 4 à 78 ans. La distribution des souches par tranche d'âge montre que 83,3% des souches TB-PR (25) étaient dans la tranche d'âge de 15-47 ans et la tranche d'âge de 4-14 ans représentait 16,7% (5),  $p < 0,0001$ . Les souches provenaient de 60 % des patients de sexe masculin (18) et de 40 % de sexe féminin (12),  $p = 0,1213$ . Le profil phénotypique combiné des souches du cas-contact et leur cas-index est indiqué dans le tableau 1.



**Tableau 1.** Profil phénotypique combiné de souches TB-PR des cas-index et contacts familiaux

N°souches	H	R	E	S	K	O	Conclusion
1*	R	R	S	R	S	S	Identique
1**	R	R	S	R	S	S	
2*	R	R	R	S	R	S	Identique
2**	R	R	R	S	R	S	
3*	R	R	R	S	R	S	Identique
3**	R	R	R	S	R	S	
4*	R	R	S	R	S	R	Identique
4**	R	R	S	R	S	R	
5*	R	R	S	R	S	R	Identique
5**	R	R	S	R	S	R	
6*	R	R	S	S	R	S	Identique
6**	R	R	S	S	R	S	
7*	R	R	S	S	R	S	Identique
7**	R	R	S	S	R	S	
8*	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>Différent</b>
8**	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	
9*	R	R	S	S	S	R	Identique
9**	R	R	S	S	S	R	
10*	R	R	S	S	S	R	Identique
10**	R	R	S	S	S	R	
11*	R	R	S	S	S	R	Identique
11**	R	R	S	S	S	R	
12*	R	R	S	S	S	S	Identique
12**	R	R	S	S	S	S	
13*	R	R	S	S	S	S	Identique
13**	R	R	S	S	S	S	
14*	R	R	S	S	S	S	Identique
14**	R	R	S	S	S	S	
15*	R	R	S	S	S	S	Identique
15**	R	R	S	S	S	S	

\* : profil du cas index ; \*\* : Profil du cas contact ; R : Résistante; S : Sensible ; H : Isoniazide; R : Rifampicine; E : Ethambutol; S : Streptomycine ; K : Kanamycine; O : Ofloxacin.

Comme il apparaît dans ce tableau, le profil phénotypique des 14 souches provenant des contacts familiaux correspondait à celui du cas-index. En revanche une seule souche (8) avait un profil différent du cas-index. Le profil génotypique combiné des souches du cas-contact et leur cas-index est présenté dans le tableau 2.



**Tableau 2.** Profil génotypique des souches de *Mycobacterium tuberculosis* du cas- index et leurs contacts familiaux.

N° souches	Lignée	Profil spoligotype															Code Octal	Conclusion
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	#		
1	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	Identique
1'	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	
2	West African1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	Identique
2'	West African1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	
3	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	Identique
3'	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	
4	West African1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	Identique
4'	West African1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	
5	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	Identique
5'	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	
6	West African1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	Identique
6'	West African 1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	
7	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	Identique
7'	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	
8	West African1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	Différent
8'	Haarlem 3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	77777777720771	
9	Haarlem 3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	77777777720771	Identique
9'	Haarlem3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	77777777720771	
10	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	Identique
10'	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	
11	West African 1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	Identique
11'	West African 1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	
12	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	Identique
12'	LAM3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	776177607760771	
13	Ugandal	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	77777777760730	Identique
13'	Ugandal	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	77777777760730	
14	West African 1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	Identique
14'	West African1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	770777777777671	
15	Haarlem	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	77777777720771	Différent
15'	Ugandal	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	77777777760730	



Numéro : Profil du cas-l'index ; Numéro : profil du cas-contact ; carré vide = 0 ; carré plein =1

Ce tableau montre que 13 profils génotypiques des contacts étaient identiques à ceux du cas-index. Par contre deux ont un profil différent du cas-index. La répartition des lignées par tranche d'âge est indiquée dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Distribution des lignées selon la tranche d'âge

Tranche d'âge/an	N	Lignées
4-14	4	LAM Haarlem
15-25	6	LAM
26-36	12	LAM, Haarlem
37-47	3	LAM, West African1
48-58	2	West African1, Ugandal
59-69	2	Ugandal Haarlem
≥ 78	1	Ugandal

Comme indiqué sur ce tableau, la tranche d'âge de 4-14 ans a uniquement la lignée euro américaine, celle ≥ 78 ans est représentée par la lignée Ugandal. Par contre, chez les autres tranches, on retrouve une diversité des lignées.

### Discussion

La présente étude avait pour objectif de déterminer le profil phénotypique et génotypique des souches de *Mt* provenant des cas-contacts familiaux versus cas-index TB-PR pour vérifier si elles sont identiques. Notre enquête s'est limitée à la recherche des contacts familiaux qui constituent le premier cercle concentrique à haut risque de transmission de la TB-PR. Etant donné que les contacts des patients tuberculeux constituent un groupe à haut risque de développer la TB, la réalisation précoce du diagnostic permettra la mise en place rapide d'un traitement adapté et l'amélioration du pronostic, tout en réduisant les risques de transmission (3-4). Dans la présente étude, le profil phénotypique des souches montre 10 cas de TB-MR (33,3 %), 19 cas preXDR (63,3 %) et 1cas de TB-XDR (3,3 %) provenant des 30 souches (contacts et leurs cas index TB-PR). Ce constat est en harmonie avec celui de Nguyen *et al.* (11) au Vietnam, qui ont rapporté 11,9 % (10/84) des isolats résistants à tous les médicaments de première ligne testés auprès des contacts. Il en est de même pour Agerton *et al.* (12) aux USA, qui ont révélé la présence de souches TB-PR dans

une enquête auprès des ménages. La présence de formes compliquées de TB chez les contacts familiaux est alarmante car elle confirme la propagation des souches résistantes aux antituberculeux au sein de la communauté, traduisant une mauvaise prise en charge des cas et cela peut avoir une influence négative sur la lutte antituberculeuse. La résistance est la conséquence de traitements inappropriés, mal observée et d'une durée insuffisante. Une fois devenus résistants, le *Mt*, le demeure et ce germe résistant peut se transmettre de personne à personne entraînant la TB résistante chez les personnes n'ayant jamais été traitées auparavant pour cette maladie. C'est ainsi que le renforcement des stratégies de prévention et de dépistage de la TB-PR est indiqué car plus tôt la TB-PR est détectée, plus tôt le traitement approprié sera administré aux patients pour éliminer l'infection et réduire le risque de propagation de la maladie (3-6). L'étude révèle que les souches TB-PR provenaient de 60 % des patients de sexe masculin (18) et de 40 % de sexe féminin (12),  $p=0,1213$ . Quoique les méthodes ne soient pas identiques, les présents résultats sont conformes à la littérature (13) et certains auteurs tels que Pierre Tattevin *et al.* (14) en France et Misombo *et al.* (15) en RDC qui soutiennent que le sexe masculin est parmi les principaux facteurs de risque pour développer la TB ou la TB-PR. Il en est de même pour le rapport de l'OMS 2021 où il est signalé que la TB touche les deux sexes dans



toutes les tranches d'âge, mais l'homme est le plus concerné (1). La distribution des souches par tranche d'âge montre que 83,3 % des souches TB-PR (25) étaient dans la tranche d'âge de 15-47 ans et 16,7 % de souches (5) dans la tranche d'âge de 4-14 ans,  $p < 0,0001$ . Certains auteurs soutiennent que l'âge  $< 40$  ans est l'un des facteurs principaux de risque de développer la TB-MR ou la TB-XDR (15-16). Il faut noter que l'ampleur de la pharmacorésistance parmi les tranches d'âge les plus jeunes est davantage susceptible d'indiquer une transmission récente que celle relevée parmi les tranches d'âge plus avancées, qui peuvent être porteuses d'infections plus anciennes (5-6,11-12). La présence des souches TB-PR chez les enfants constitue un bon indicateur qui prouve la circulation des souches TB-PR dans la communauté (4,6). Ces données sont similaires à celles trouvées par Nguyen *et al.* (11), Misombo-Kalabela *et al.* (15) qui révèlent que les enfants figurent parmi les facteurs de risque. Les résultats montrent, qu'une souche du contact avait un profil différent de celui du cas-index (XDR et Pre-XDR). Cette observation est corroborée par celle de Nguyen *et al.* (11) auprès des ménages qui montrent qu'après le séquençage du génome entier, ils ont identifié trois autres cas de TB-MR qui n'ont pas été reconnus par les méthodes phénotypiques (11). Ces auteurs pensent que le problème se pose sur les concentrations critiques et les normes de référence les plus appropriées pour la détermination de TB-MR (11). Chiang *et al.* (17) ont révélé une concordance de 54,3 % de profils de résistance des cas-index de TB-PR et des cas secondaires au sein de leurs ménages regroupés à l'aide d'une méta-analyse à effets aléatoires. Nous pensons que le profil de résistance phénotypique discordant rencontré dans la présente étude peut être dû à des résultats phénotypiques imparfaits. La survenue de plusieurs cas de TB dans une même famille fait suspecter un lien entre les cas du fait d'un lien familial et du contact étroit qui existe entre elles. Quand les deux profils sont rigoureusement identiques, cela confirme la contamination des sujets par la souche du cas-index. C'est ainsi que le génotypage de souches de *Mt* joue un rôle important dans la surveillance et permet de tracer les chaînes de transmission de la TB (5-6, 11-12). L'ensemble des souches ayant le même génotype constitue

ce qu'on appelle un « cluster ou grappe et ces clusters sont constitués par au moins deux isolats avec des profils génétiques identiques ou très proches (18). La présente étude a montré que 13 souches TB-PR (souches 1-7 et 9-14) sont identiques par leur profil génotypique à ceux du cas-index. Ces souches proviennent soit de la mère à sa fille, d'un frère à un frère, d'une sœur à sa sœur, d'un oncle à ses neveux ou d'une tante à sa nièce. Ce qui nous pousse à dire que vivre dans le même toit avec le patient ayant la TB sensible ou TB-PR, augmente le risque de transmission. Agerton *et al.* (12) en Caroline du Sud (1995), dans leur enquête sur la transmission nosocomiale de la TB-MR, ont montré que 8 souches provenant des patients ayant TB-MR, avaient des profils d'empreintes génétiques correspondant à la souche W1, une souche hautement résistante aux antituberculeux. Cette souche était responsable d'une importante épidémie nosocomiale à New York au début des années 1990. Ce qui prouve la circulation de la même souche chez les sujets atteints de TB-PR. Et donc, le meilleur moyen d'interrompre la transmission est de placer les patients, le plus rapidement possible, sous traitement antituberculeux efficace (3-5). L'étude montre également que les souches 8 et 15 ont un profil génotypique différent de celui du cas-index. Cela indique qu'il n'y a aucun lien existant entre ces souches. Chacun de ces sujets s'est contaminé en dehors du toit par une autre souche différente du cas. Cela est en phase avec d'autres études qui ont montré que le contact étroit constitue un facteur de risque pour l'entourage familial du patient (11-13). Mais, on note que la contamination peut provenir en dehors du toit. Les spoligotypes obtenus montrent la présence de quatre lignées dont deux d'entre elles à savoir LAM et West African, prédominant parmi les souches TB-PR respectivement  $n=12$ ; 40 % vs  $n=11$ ; 36,7 %. En revanche, les deux autres lignées (Haarlem et Ugandal) avaient une proportion faible (13,3% et 10%). Ces données montrent une diversité de souches génotypiques chez les patients contacts familiaux et leurs cas-index dans la présente étude. Ce constat est en accord avec Fenner *et al.* (19) en RDC (2011), qui avaient également rapporté une diversité de souches de *M.t* dans le pays. Dans nos deux études, la lignée euro-américaine (40% de LAM trouvés chez les cas TB-MR et sensibles) était prépondérante avec une proportion de 40 % et



73,3 % de cette lignée se retrouve dans la tranche d'âge de 4 à 36 ans dans notre série. Bereket Workalemahu *et al.* (20) à Jimma, Ethiopie (2020), ont rapporté une proportion plus élevée (66,7 % ; 10/15) de la lignée LAM chez les enfants que celle de 13,3 % trouvée dans notre série. Par contre, cette fréquence est supérieure à celle de 3,8% rapportée par Kibiki *et al.* (21) en Tanzanie. La différence de proportion peut s'expliquer par relative petite taille de l'échantillon et la fréquence des échanges inter humains. En dehors de la lignée euro américaine qui prédomine dans la présente étude, il y avait également la lignée West African (36,7 %) qui venait en second lieu. La lignée est retrouvée dans les tranches d'âge de 37-47 et 48-58 ans. C'est une première de rencontrer cette lignée chez les patients ayant la TB-PR en RDC. Cette souche est la plus rencontrée en Afrique de l'Ouest (22-23) et sa présence dans notre pays peut être expliquée par le mouvement de la population. La proportion de la lignée West African rapportée dans ce travail est élevée (36,7 %) par rapport à celles de 1,25 % et 17,4 % trouvés respectivement par Taher *et al.* (7) en Iran (2018) et Jagielski *et al.* (8) en Pologne (2010) dans leurs études. La lignée Haarlem tire son origine en Europe (Pays bas), mais elle est rencontrée actuellement partout dans le monde à des proportions différentes. La présente étude a trouvé une faible proportion (13,3 %), mais prédominant dans la tranche d'âge de 4 à 14 ans et de 26-36 ans. La proportion rapportée dans cette série est supérieure à celle de 4% décrite par Fenner *et al.* (19) en RDC (2011). Cette lignée est de plus en plus associée à la résistance des souches. Ce constat rejoint les travaux de Millet *et al.* (23) en Guyanne (2014), qui avaient mis en évidence une association significative entre la lignée LAM et Haarlem avec la résistance aux antituberculeux. De même Sharereh *et al.* (24) en Iran (2016), ont rapporté aussi dans leur série, la présence de la lignée Haarlem 3 parmi les isolats provenant de cas de TB-MR et XDR-TB. La présence de cette lignée en RDC peut être due aux échanges inter humains avec la population européenne. Enfin, la lignée Ugandal est fréquente en Ouganda, mais elle est rencontrée également ailleurs à des proportions différentes (25). Notre avons trouvé une proportion de 10 % chez les patients ayant la TB-PR. Cette proportion est inférieure à celle de 46 % rapportée par

Wamala *et al.* (25) en Ouganda (2014) chez les patients ayant des lymphadénites tuberculeuses. La présence de cette souche en RDC peut se justifier par les mouvements des populations, l'Ouganda étant un pays limitrophe. Du point de vue virulence des souches et selon un modèle expérimental animal, il existe une association entre le nombre des délétions génétiques et le risque de lésions cavitaires chez les patients avec une évolution peu satisfaisante (26). Les échanges inter humains font partis de facteurs de risque.

Le présent travail présente des limites, à savoir, le relatif petit nombre des souches typées (seulement 30/88) faute de financement. L'autre limite est en rapport avec la technique de Spoligotyping utilisée pour le génotypage des souches qui est moins discriminante. Cependant, il faut noter que ces limites n'affectent pas la pertinence de présentes observations susceptibles d'être complétées par des études ultérieures.

#### Conclusion

Le profil génotypique et géotypique des souches de *Mt* montre qu'il y a effectivement la propagation des souches TB-PR dans la communauté et les personnes vivant dans l'entourage familial des patients sont les plus exposées. En outre, Le génotype bactérien observé dans la présente étude pourrait être prédictif du phénotype de la forme clinique de la TB.

#### Conflit d'intérêt

Les auteurs n'ont aucun conflit d'intérêt à déclarer.

#### Remerciements

Nous adressons nos remerciements à toutes les personnes qui ont bien voulu participer à la présente étude ainsi qu'au personnel des CSDTs et de l'IMT Anvers.

#### Contribution des auteurs

Les auteurs ont contribué à la rédaction du manuscrit et déclarent avoir lu et approuvé la version finale du manuscrit.

#### Références

1. World Health Organization. *Global Tuberculosis Report 2021*. Geneva: World Health Organization; 2021. <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1312164/retrieve>, accessed 1 May 22).
2. Nicolas Veziris\* et Jérôme Robert. Résistance aux antituberculeux et impasse



- thérapeutique. *Med Sci (Paris)* 2010 ; **26** : 976-980.
3. Abiteboul D, Blanc-Jouvan F, Carbonne A, Che D, De Piccioto C, Fraisse P et al. Enquête autour d'un cas de tuberculose. *CSHPF* 2006:4-61.
  4. Farmer P et Kim JY. Community based approaches to the control of multidrug resistant tuberculosis: introducing "DOTS-plus". *BMJ*. 1998; **317** (7159): 671-674.
  5. Wada T, Fujihara S, Shimouchi A, Harada M, Ogura H, Matsumoto S et al. High transmissibility of the modern Beijing Mycobacterium tuberculosis in homeless patients of Japan. *Tuberculosis*. 2009; **89**(4): 252-255.
  6. Masjedi MR, Farnia P, Sorooch S, Pooramiri MV, Mansoori SD, Zarifi AZ et al. Extensively drug-resistant tuberculosis: 2 years of surveillance in Iran. *Clin Infect Dis*. 2006; **43** (7):841-847.
  7. Azimi T, Nasiri MJ, Zamani S, Hashemi A, Goudarzi H, Fooladi AAI et al. High genetic diversity among *Mycobacterium tuberculosis* strains in Tehran, Iran, *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis* 2018; **11**:1-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jctube.2018.01.001>.
  8. Jagielski T, Augustynowicz-Kopec E, Zozio T, Rastogi N, Zwolska Z. Spoligotype-based comparative population structure analysis of multidrug-resistant and isoniazid-monoresistant Mycobacterium tuberculosis complex clinical isolates in Poland. *J Clin Microbiol*. 2010; Nov; **48** (11): 3899-3909.
  9. World Health Organization. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis. Geneva: 2018 available on ([https://www.who.int/tb/publications/2018/WHO\\_technical\\_drug\\_susceptibility\\_testing/en/](https://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_technical_drug_susceptibility_testing/en/), accessed 1 June 2020).
  10. Demay C, Liens B, Burguiere T, Hill V, Couvin D, Millet J et al. SITVITWEB-a publicly available international multimarker database for studying Mycobacterium tuberculosis genetic diversity and molecular epidemiology. *Infect Genet Evol*. 2012; **12**: 755-766.
  11. Nguyen Thi Van Anh, Nguyen Tran Hien, Ben J. Marais, Vitali Sintchenko et Vitali Sintchenko. *Mycobacterium tuberculosis* Drug Resistance and Transmission among Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Am J Trop Med Hyg*. 2007; **99** (6):1397-1406.
  12. Agerton TB, Valway SE, Blinkhorn RJ, Shilkret KL, Reves R, Schluter WW et al. Spread of strain W, a highly drug-resistant strain of Mycobacterium tuberculosis, across the United States. *Clin Infect Dis*. 1999 Jul; **29** (1) : 85-92;
  13. Ninnet B, Roux-Lambart P, Schrenzela Q et Janssens JP. Nouveaux tests pour le diagnostic de la tuberculose. *Rev Mal Resp*. 2011; **28** (6): 823-833.
  14. Pierre Tattevin. Maîtrise du risque lié à admission d'un patient MDR/XDR TB ; Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale, Hôpital Pontchaillou, CHU Rennes, 2015. Disponible sur <https://www.sfeh.net>, consulté le 10 octobre 2022.
  15. Misombo-Kalabela A, Ngufack-Tsague G, Kalla GCM, Afane Ze E, Kimpanga D et Panda T. Facteurs de risque de la tuberculose multirésistante dans la ville de Kinshasa en République Démocratique du Congo. *Pan Afr Med J*. 2016 ; **23** : 157- 166.
  16. Che D et Antoine D. Epidémiologie de la tuberculose en France en 2008. *Med Mal Infect* 2011 ; **41** (7) : 372-378.
  17. Silvia S Chiang, Meredith B Brooks, Helen E Jenkins, Dana Rubenstein, James A Seddon, Brittny J van de Water et al. Concordance of Drug-resistance Profiles between Persons with Drug-resistant Tuberculosis and Their Household Contacts: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2021 Jul 15; **73** (2):250-263.
  18. Barnes PF, Yang ZS, Preston-Martin JM, Pogoda BE, Jones M, Oyata KD et al. Patterns of tuberculosis transmission in Central Los Angeles. *JAMA* 1997; **278**:1159-1163.
  19. Fenner L, Gagneux S, Kabuya G, Stucki D, Kabuayi JP, Borrell S et al. Diversité génétique de Mycobacterium tuberculosis et mutations conférant une résistance aux médicaments en République démocratique du Congo. *Revue médicale d'Afrique de l'Est*. 2011; **88** (12): 409-415.
  20. Workalemahu B, Berg S, Tsegaye W, Abdissa A, Girma T, Abebe M et al. Genotype diversity of Mycobacterium



- isolates from children in Jimma, Ethiopia. *BMC Res Notes*. 2013; 6: **352**. doi: 10.1186/1756-0500-6-352.
21. Kibiki GS, Mulder B, Dolmans WM, de Beer JL, Boeree M, Sam N et al. Mycobacterium tuberculosis genotypic diversity and drug susceptibility pattern in HIV-infected and non-HIV-infected patients in northern Tanzania. *BMC Microbiol*. 2007; **7**(1): 51-55.
  22. Farnia P, Masjedi MR, Misraeidi M, Mohammadi F, Ghanavi J, Vincent V et al. Mycobacterium tuberculosis strains in Iranian and Afghan MDR-TB patients, *J. Infect*. 2006; **53** (5): 331-336.
  23. Millet J, Berchel M, Prudenté F, Streit E, Bomer AG, Schuster F et al. Résistance aux antituberculeux de première ligne et principales familles génotypiques de Mycobacterium tuberculosis en région Antilles-Guyane : profils, évolution et tendances de 1995 à 2011. *Bull. Soc. Pathol. Exot*. 2014; **107**: 90-105.
  24. Sharareh Khanipour, Naiyereh Ebrahimzadeh, Morteza Masoumi, Fatemeh Sakhaei, Seyed Davar Siadat, Farhad Alinezhad et al. Haarlem 3 is the predominant genotype family in multidrug-resistant and extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis in the capital of Iran: A 5-year survey. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2016 Jun; **5**:7-10. doi: 10.1016/j.jgar.2016.01.007. Epub 2016 Feb 26.
  25. Wamala D, Asiimwe B, Kigozi E, Mboowa G, Joloba M et Kallenius G. Clinico-pathological features of tuberculosis due to Mycobacterium tuberculosis Uganda genotype in patients with tuberculous lymphadenitis: a cross sectional study. *BMC Clin Pathol*. 2014; **14** (14): 1472-6890. doi: 10.1186/1472-6890-14-14.
  26. Lopez B, Aguilar D, Orozco H, Burger M, Espitia C, Ritacco V, Barrera L, Kremer K, HernandezPando R, Huygen K, van Soolingen D. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different Mycobacterium tuberculosis genotypes. *Clin Exp Immunol*. 2003 Jul;**133** (1):30-37.

Comment citer cet article: Kabedi MJB, Ahuka SM, Lunguya OM, Kayembe JMK, Situakibanza HNT, Bisuta SF, et al. Profil phénotypique et génotypique des souches de Mycobactérium tuberculosis résistants aux antituberculeux des contacts familiaux versus cas-index TB-PR à Kinshasa, en RD Congo. *Ann Afr Med* 2023; **16** (3): e5156-e5165. <https://dx.doi.org/10.4314/aamed.v16i3.2>