

Dynamique de transmission et facteurs de risque de la tuberculose à *Mycobacterium bovis* chez l'homme et l'animal : un problème global

Sylvain GODREUIL | s-godreuil@chu-montpellier.fr

CHU et université de Montpellier, Inserm - Laboratoire de bactériologie, Inserm U1058 - Montpellier

Mots clés : Environnement, épidémiologie moléculaire, facteurs de risque, faune sauvage, *Mycobacterium bovis*, transmission interhumaine, tuberculose bovine et humaine, zoonose

Mycobacterium bovis (MB)^{*} est un pathogène à potentiel zoonotique^{*} impliquant différents compartiments écologiques (animaux sauvages et domestiques, homme et environnement). Dans les pays du Sud, la tuberculose bovine (bTB)^{*} représente un danger majeur en termes de santé publique et animal (1, 2). En effet dans ces régions, la majorité des bovins et de la population humaine vivent dans des zones communes où la maladie est répandue et peu contrôlée (2). Dans les pays du Nord, la mise en place de programmes de contrôle de la bTB comprenant la pasteurisation généralisée de lait et l'abattage systématique des bovins à risque ont considérablement diminué l'incidence de bTB dans les troupeaux ainsi que les cas de tuberculose (TB)^{*} zoonotique chez l'homme (3). Aujourd'hui dans les pays industrialisés, la bTB n'est plus un problème de santé publique, mais reste un problème de santé animale coûteux et imparfaitement contrôlé avec d'importantes variations de prévalence dans le cheptel en fonction des pays (<0,02% en France et plus de 10% en Royaume Unis). Dans les pays du Nord, malgré ces programmes de contrôle et d'éradication de la bTB, MB continue à se propager à bas bruit au sein du cheptel bovin. Le réservoir principal de MB est l'animal infecté (bovin et faune sauvage), qui contamine les animaux sains essentiellement par transmission indirecte via la nourriture et l'eau contaminées par les excréta (fèces, urine, crachat...) des animaux malades (1,4). La connaissance d'autres facteurs de risque de contamination par MB, comme l'environnement par exemple, est un élément déterminant dans la lutte de cette zoonose. L'article de Barbier et al. montre que les matrices environnementales pourraient constituer un réservoir contaminant pour les animaux. Dans les pays industrialisés la plupart des cas de TB humaine à MB est diagnostiquée chez des patients, soit nés avant l'introduction de ces mesures de contrôle, soit provenant d'un pays de forte incidence de bTB dans lequel ces mesures ne sont pas appliquées. Les cas de transmission interhumaine de TB à MB restent rares et difficile à diagnostiquer, et nécessitent une approche combinée d'épidémiologie de terrain et moléculaire (5). L'article de Buss et al. illustre l'épidémiologie de cette pathologie chez l'homme dans les pays du Nord. Il met aussi en exergue : i) la complexité de la mise en œuvre et de l'interprétation des enquêtes épidémiologiques autour des cas de TB; ii) les difficultés à confirmer une transmission interhumaine de TB à MB, même, à l'aide du séquençage des génomes entiers^{*} des isolats bactériens infectant.

Première détection moléculaire de *Mycobacterium bovis* dans des échantillons environnementaux au sein d'une région endémique française pour la tuberculose bovine

Barbier E. et al. (2016). First molecular detection of *Mycobacterium bovis* in environmental samples from a French region with endemic bovine tuberculosis. J Appl Microbiol, vol. 120 : p.1193-207

Résumé

L'objectif de cette étude était de déterminer, par une approche moléculaire, la prévalence de MB dans les matrices environnementales au sein d'une région française endémique pour la bTB. Trois techniques de PCR quantitative en temps réel (qPCR)^{*} ont été mises au point pour détecter et quantifier les espèces du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB)^{*} pour deux, et une, plus spécifique, dédiée à MB. Les performances de ces techniques moléculaires (qualité et quantité d'extraction d'ADN et sensibilité des qPCR) ont été optimisées et validées à partir de cultures pures de la souche vaccinale de MB du bacille de Camette-

Guérin^{*} diluée dans des échantillons de terre, de matière fécale et d'eau. Ces méthodes moléculaires ont été évaluées en les comparant à des techniques quantitatives phénotypiques bactériennes. La sensibilité de détection était située entre $2,5 \cdot 10^2$ et $2,5 \cdot 10^3$ unité formant colonie (UFC)/g d'échantillons ou UFC/100 ml d'eau. Les PCR^{*} ont été réalisées sur 365 échantillons environnementaux dans la région d'étude endémique. Des échantillons environnementaux provenant d'autres régions indemnes de bTB ont été utilisés comme témoin négatif. Sur les 365 échantillons testés, neuf présentaient une PCR positive significative signant la présence du CMTB, et sur ces neuf échantillons, seulement trois affichaient une signature spécifique de la présence du MB. Grâce à l'optimisation de ces techniques de détections par PCR, les auteurs ont pu identifier pour la première fois la présence de MB dans les matrices environnementales d'une région endémique pour bTB. Mais la faible fréquence de détection de ce pathogène semblerait indiquer que l'environnement ne puisse constituer qu'un réservoir marginal de contamination pour les animaux.

Commentaire

Un des points forts de cette étude est d'avoir mis au point un protocole, que ce soit pour l'extraction de l'ADN ou pour les techniques de détection moléculaire, extrêmement performant en particulier sur des échantillons environnementaux reconnus comme difficile à exploiter (6,7). Bien que cette étude décrive pour la première fois la détection de MB dans des matrices environnementales, le faible nombre d'échantillons retrouvé positif, semble cependant pondérer le rôle de l'environnement dans le cycle (réservoir) de contamination zoonotique de MB (8, 9). La confirmation de détection du CMTB dans des sources d'eau où s'abreuvent les animaux d'élevage et sauvages, fait suggérer aux auteurs que ces zones pourraient être des lieux privilégiés de contamination directe ou indirecte entre les animaux infectés et sains. Il serait pertinent d'explorer l'impact de la saisonnalité (période humide *versus* période sèche) sur la fréquence et l'intensité de détection de MB dans ces zones d'eau. En effet, la diminution des ressources disponibles en eau pendant la période sèche, pourrait augmenter le risque de contamination bactérienne dans cet environnement par l'accroissement de densité des populations d'animaux contaminés venant s'abreuver à ces sources (10). L'un des points faibles de cette étude, est de ne pas avoir associé à la détection moléculaire de MB, la recherche simultanée de ce pathogène en culture. Car si la détection de MB par PCR prouve la présence d'ADN mycobactérien dans l'environnement, ceci n'exclut pas que ce dernier puisse être issu de pathogènes non viables et donc non infectants (6).

Suspicion de transmission interhumaine aéroportée à *Mycobacterium bovis* au Nebraska entre 2014 et 2015

Buss BF. et al. (2016). Possible Airborne Person-to-Person Transmission of *Mycobacterium bovis* - Nebraska 2014-2015. *Morb Mortal Wkly Rep.* Vol. 65: p. 197-201.

Résumé

Le but de cette étude était d'explorer les liens de transmission possibles entre deux cas de TB humaine dans le Nebraska (US) (patients A et B) à MB microbiologiquement documentés et dont le lien génétique entre les isolats a été confirmé par séquençage des génomes complets. L'objectif secondaire était de décrire l'enquête épidémiologique autour de ces cas. Le patient A, 42 ans, né au Mexique, vivant aux États-Unis (Nebraska) depuis 2010, présentait comme facteur de risque le fait d'avoir travaillé dans une ferme laitière et de consommer régulièrement de la nourriture mexicaine à base de lait non pasteurisé. La patiente B, 16 ans, d'origine mexicaine, née aux États-Unis, ne présentait aucun facteur de risque d'exposition à MB. Le seul lien entre les deux patients était de fréquenter régulièrement la même église. L'enquête autour des cas permettait de cibler 181 patients dont 24 à haut risque (avec des contacts étroits), et 157 avec un risque moins élevé parmi les familles, les collègues de travail, les élèves du lycée et les paroissiens. L'ensemble des sujets bénéficiait d'un test de dépistage de TB latente associant un test d'intradermoréaction à la tuberculine (IDR) et de libération de l'interferon gamma

(IGRA : Interferon Gamma Release Assay). Tous les patients ayant eu un contact récent (< deux mois) et dont le dépistage initial était négatif, étaient soumis à une seconde série de dépistage huit semaines plus tard, afin d'éliminer les faux négatifs. Tout patient présentant un test de dépistage positif faisait l'objet d'explorations complémentaires pour éliminer une maladie active et confirmer une TB latente. La comparaison des génomes des souches MB des patients A et B, par séquençage complet, a confirmé le lien génétique entre les isolats. Ces résultats couplés à l'enquête épidémiologique privilégiait l'hypothèse d'une contamination zoonotique et/ou alimentaire du patient A (le génome des isolats MB humain était identique à ceux retrouvés chez des bovins mexicain), suivie d'une transmission aérienne vers la patiente B au sein de l'église. Aucun patient présentant un test de dépistage positif pour la TB, n'a développé ensuite de TB. Cependant le taux de prévalence de TB latente retrouvé chez les patients explorés (22%, 39/181), était supérieur à celui attendu au niveau national. Cette observation était probablement liée à la présence dans cette étude d'un grand nombre de patients à risque (soit nés dans un pays endémique pour la TB, soit consommateurs de lait ou de fromage au lait cru non pasteurisé ...).

Commentaire

Cet article illustre parfaitement l'épidémiologie des cas de TB humaine à MB dans les pays industrialisés. Ces cas surviennent essentiellement chez des patients originaires de pays où la bTB est répandue et peu contrôlée, et où la consommation d'aliment à base de lait cru non pasteurisé est répandue comme ici au Mexique (2, 11). Dans ces pays où les facteurs de risques zoonotiques de contracter la TB à MB sont importants, la probabilité de transmission interhumaine reste non négligeable. Une étude d'épidémiologie moléculaire de MB réalisée à Mexico, montrait qu'un grand nombre de souches humaines et bovines de MB partageait des profils génétiques communs, appuyant l'hypothèse d'une transmission zoonotique importante dans cette zone (12). Selon une étude du Center for Disease Control and Prevention (CDC) menée en Californie entre 2003-2011 (11), les cas de TB humaine à MB avaient augmenté significativement, l'origine hispanique ainsi que l'immunodépression (en dehors du VIH) constituaient les principaux facteurs de risque. Dans ce cadre, les auteurs préconisaient de réaliser un séquençage de génome complet pour l'ensemble des isolats de MB chez tous les patients avec une TB microbiologiquement documentée. Cette stratégie permettrait de mettre en place une surveillance épidémiologique et de caractériser les génotypes de MB circulante aux États-Unis afin d'améliorer le contrôle de cette maladie. Enfin cet article met en exergue l'importance des outils d'épidémiologie moléculaire dédiés à la TB, comme le séquençage de génome complet, s'avérant être une méthode robuste et discriminante pour confirmer les liens épidémiologiques d'isolats mycobactériens retrouvés chez les malades. Cette étude montre aussi, les limites et les difficultés des approches combinées d'épidémiologie de terrain et génétique à confirmer définitivement une transmission interhumaine aérienne à MB (5,13). Dans cette étude, le patient présentait de nombreux facteurs de risque d'exposition à MB, dont l'un était d'avoir travaillé dans une ferme laitière aux États-Unis. Si les cas bTB et humains ont considérablement diminué dans les pays industrialisés, les

professionnels de la filière bovine (éleveurs, équarisseurs et vétérinaires) semblent présenter des risques professionnels de contamination à MB de l'animal à l'homme (14) qui doivent être pris en compte dans la protection de ces travailleurs.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les facteurs qui régissent la récurrence, l'émergence et la réémergence des maladies infectieuses restent mal connus. Ces difficultés de compréhension sont dues à la complexité des systèmes infectieux, où un grand nombre de paramètres interviennent et interagissent (hôtes, pathogènes et environnement). C'est le cas de la bTB qui est une maladie infectieuse contagieuse provoquée par MB. Elle touche principalement le bétail, certains ani-maux sauvages, mais également l'homme. Bien que Barbier *et al.* (2016) ainsi que d'autres travaux montrent que MB ait été détecté dans l'environnement par PCR, le rôle de cet écosystème comme réservoir et/ou source de transmission de MB vers les animaux reste à démontrer. La consommation d'eau de boisson contaminée ou l'inhalation d'aérosols contaminés pourraient expliquer l'infection du bétail dans la majorité des cas.

Buss *et al.* (2016) confirme que les techniques d'épidémiologie génétique comme la comparaison des séquences complètes des génomes d'isolats de MB infectants, s'avèrent être des méthodes robustes et discriminantes pour confirmer les liens épidémiologiques de souches infectantes de MB chez les malades ou chez les animaux sources, mais aussi pour mieux appréhender la dynamique de transmission de la TB à MB.

La mondialisation a permis le développement de la circulation des personnes, des animaux et des végétaux, jouant ainsi un rôle central dans la dynamique et les flux des maladies infectieuses. MB est un modèle qui illustre parfaitement cette circulation de pathogènes sans frontière, avec des enjeux différents en termes de santé animale et santé publique entre les pays du Nord et du Sud. Cependant l'optimisation du contrôle de cette maladie qui passe par une meilleure compréhension des modalités de transmission et l'identification des facteurs de risque, nécessite une approche globale (Nord et Sud) et intégrée (animaux, homme et environnement).

GENERAL CONCLUSION

The factors that influence the recurrence, emergence and re-emergence of infectious diseases are poorly known. This is due to the complexity of the infectious systems in which a huge number of parameters play a role and interact (hosts, pathogens and environment). This is the case of bTB, a contagious infectious disease caused by MB that affects mainly livestock, some wild animals, but also humans. Although Barbier et al. (2016) as well as other studies show that MB has been detected in the environment by PCR analysis, the role of this ecosystem as reservoir and/or source of MB transmission towards animals has not been demonstrated yet. Drinking contaminated water or inhaling contaminated bioaerosols might explain cattle infection in the majority of cases.

Buss et al. (2016) confirms that the techniques of genetic epidemiology, such as the comparison of the whole-genome sequences of MB isolates from infected patients/animals, are robust and discriminant methods to confirm the epidemiological links of MB strains from infected patients and from the source animals, but also to better understand the transmission dynamics of TB caused by MB.

Globalization has greatly favoured the circulation of people, animals and plants, thus playing a central role in the dynamics and spread of infectious diseases. MB is a model that describes perfectly this circulation of pathogens without borders, with different veterinary and public health issues between countries of the North and of the South. Nevertheless, the optimization of the control of this disease requires a global (North and South) and integrated (animals, humans and environment) approach to better understand the transmission modalities and to identify risk factors.

Lexique

Complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB): complexe qui comprend les différentes espèces responsables de la tuberculose (TB) (maladie infectieuse et contagieuse). Parmi ces espèces, *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) et *Mycobacterium Africanum* sont principalement impliquées dans les cas de TB chez l'homme. *Mycobacterium bovis* (MB) est impliqué dans la tuberculose bovine (bTB) chez les animaux d'élevage et sauvages mais touche aussi l'homme. MB est aussi à l'origine de la souche vaccinale atténuée de MB ou bacille Calmette et Guérin.

PCR (Réaction en chaîne par polymérase): méthode qui permet d'amplifier (de multiplier) un court fragment d'ADN afin de la mettre en évidence ou de le quantifier.

PCR en temps réel ou qRT-PCR: la quantité d'ADN amplifiée est mesurée à chaque cycle d'amplification. La qRT-PCR permet donc d'obtenir en temps réel une quantification absolue de la quantité initiale de l'ADN cible.

Séquençage du génome complet: consiste en l'analyse complète d'un génome pour déterminer la succession de

toutes les bases qui composent l'ADN d'un organisme (bactérie, virus...)

Transmission hypoendémique : désigne une transmission faible intensité avec des effets peu importants sur la population.

Zoonose : infection naturellement transmise de l'animal à l'homme et réciproquement. Les agents étiologiques infectieux sont variés (bactérie, virus, champignons).

Publications de référence

1 Böhm, M., Hutchings, M.R. and White, P.C.L. Contact networks in a wildlife-livestock host community: identifying high-risk individuals in the transmission of bovine TB among badgers and cattle. *PLoS One* 2009; 4

2 Gallivan M, Shah N, Flood J. Epidemiology of human *Mycobacterium bovis* disease, California, USA, 2003-2011. *Emerg Infect Dis* 2015 Mar; 21(3):435-43.

3 More SJ, Radunz B, Glanville RJ. Lessons learned during the successful eradication of bovine tuberculosis from Australia. *Vet Rec.* 2015 Sep 5; 177(9):224-32.

4 Garnett, B.T., Delahay, R.J. and Roper, T.J. Use of cattle farm resources by badgers (*Meles meles*) and risk of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) transmission to cattle. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 2002; 269: 1487-1491.

5 Evans JT, Smith EG, Banerjee A et al. Cluster of human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*: evidence for person-to-person transmission in the UK. *Lancet*; 2007; Apr 14; 369(9569):1270-6.

6 Adams, A.P., Bolin, S.R., Fine et al. Comparison of PCR versus culture for detection of *Mycobacterium bovis* after experimental inoculation of various matrices held under environmental conditions for extended periods. *Appl Environ Microbiol* 2013; 79: 6501-6506.

7 Pontiroli, A., Travis, E.R., Sweeney, F.P et al. Pathogen quantitation in complex matrices: a multioperator comparison of DNA extraction methods with a novel assessment of PCR inhibition. *PLoS One*; 2011.

8 Courtenay, O., Reilly, L.A., Sweeney, F.P et al. Is *Mycobacterium bovis* in the environment important for the persistence of bovine tuberculosis? *Biol Lett* 2006; 71 : 1946-1952.

9 Fine, A.E., Bolin, C.A., Gardiner et al. A study of the persistence of *Mycobacterium bovis* in the environment under natural weather conditions in Michigan, USA. *Vet Med* 2011.

10 King, H.C., Murphy, A., James, P et al. The variability and seasonality of the environmental reservoir of *Mycobacterium bovis* shed by wild European badgers. *Sci Rep* 2015; 5 :1-7.

11 Gallivan M, Shah N, Flood J Epidemiology of human *Mycobacterium bovis* disease, California, USA, 2003-2011. *Emerg Infect Dis.* 2015; Mar; 21(3):435-43.

12 Rodwell TC, Kapasi AJ, Moore M et al. Tracing the origins of *Mycobacterium bovis* tuberculosis in humans in the USA to cattle in Mexico using spoligotyping. *Int J Infect Dis* 2010 Sep; 14 Suppl 3: 129-35.

13 LoBue PA, LeClair JJ, Moser KS. Contact investigation for cases of pulmonary *Mycobacterium bovis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004 Jul; 8 (7):868-72.

14 Sunder S, Lanotte P, Godreuil S, et al. Human-to-human transmission of tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in immunocompetent patients. *J Clin Microbiol* 2009; Apr; 47(4):1249-51.

Revue de la littérature

El-Sayed A, El-Shannat S, Kamel M et al. Molecular Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in Humans and Cattle. *Zoonoses Public Health.* 2015 Dec 18.

More SJ, Radunz B, Glanville RJ. Lessons learned during the successful eradication of bovine tuberculosis from Australia. *Vet Rec.* 2015 Sep; 5;177(9):224-32.

Gallivan M, Shah N, Flood J. Epidemiology of human *Mycobacterium bovis* disease, California USA, 2003-2011. *Emerg Infect Dis.* 2015 Mar; 21(3):435-43.

Autres publications identifiées

Trewby H, Wright D, Breadon EL et al. Use of bacterial whole-genome sequencing to investigate local persistence and spread in bovine tuberculosis. *Epidemics* 2016; Mar;14:26-35.

Les études d'épidémiologie moléculaire de M. bovis sont fondamentales pour comprendre la dynamique de transmission de ce pathogène dans les cheptels bovins. Dans cet article, les auteurs montrent l'apport de l'utilisation du séquençage du génome entier pour étudier les souches de MB isolées dans les cheptels contaminés en Angleterre. Cet article met en exergue que l'utilisation systématique de cette technologie permettrait une compréhension plus fine de la transmission et de la persistance de certains génotypes de MB dans bétail, favorisant ainsi, la mise en œuvre d'une lutte plus efficace contre la tuberculose bovine.

Barasona JA, Vicente J, Díez-Delgado I et al. Environmental Presence of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in Aggregation Points at the Wildlife/Livestock Interface. *Trans-bound Emerg Dis.* 2016 Feb 10.

Les sources d'eau où s'abreuvent les animaux d'élevage et sauvages semblent être des zones privilégiées de contamination indirecte de la tuberculose bovine entre les animaux infectés et sains. Dans cet article, la stratégie développée, est basée sur la détection par PCR des espèces du complexe Mycobacterium tuberculosis (MTBC) dans l'environnement aquatique, couplée, à la détection par caméra à déclenchement automatique des animaux. Les auteurs mettent en évidence une corrélation entre la présence d'animaux s'abreuvant suspectés de TB bovine (cachectiques) et la détection de CMTB dans ces points d'eau. Les informations fournies par cette étude permettront de mieux cibler les actions et les stratégies de lutte contre la tuberculose à l'interface entre la faune sauvage et d'élevage.

Khattak I, Mushtaq MH, Ahmad MU et al. Zoonotic tuberculosis in occupationally exposed groups in Pakistan. *Occup Med (Lond).* 2016 Mar 30.

Les professionnels de la filière bovine (éleveurs, équarisseurs et vétérinaires) semblent être exposés à des risques non négligeables de contamination à MB de l'animal à l'homme. Ces risques sont majorés au sein des abattoirs situés dans les pays du Sud, où la prévalence de la tuberculose bovine est importante. Dans cette étude, réalisée dans un abattoir du Pakistan, les auteurs montrent un nombre de cas significatif de TB humaine à MB chez les employés, lié à une contamination zoonotique. Cette étude met en exergue la nécessité de mettre en place des équipements de protection et des techniques de travail appropriées pour limiter ce risque de TB zoonotique professionnelle.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt