

Actualité sur la peste

Dr Boutiba Ben Boubaker I.
Laboratoire de Microbiologie
EPS Charles Nicolle
Collège des Maladies Infectieuses, Microbiologie et Parasitologie et Mycologie
Tunis, 27-05-2010

La peste

- Maladie infectieuse spontanément mortelle



Découverte en 1894 à Hong Kong
Alexandre YERSIN
1863 - 1943

- *Yersinia pestis*:

- Bactérie rapidement évolutive, qui a récemment acquis résistance aux antibiotiques

⇒ Classée parmi les **agents de bioterrorisme de groupe A** (par les Centers for Diseases Control and Prevention)

Tableau 1 : Agents de bioterrorisme de la « Catégorie A »⁴

| | |
|--|---|
| Variole | Fièvre suivie d'une éruption cutanée : maculeuse, vésiculaire |
| Anthrax | Fièvre, lymphadénopathie médiastinale, épanchements pleuraux ; escarres indolores entourées d'un œdème marqué |
| Peste | Fièvre, pneumonie |
| FHV (la fièvre ebola, la maladie de Marburg et la fièvre de Lassa) | Fièvre, syndrome du sepsis, insuffisance multiviscérale |
| Toxine botulique | Diplopie, dysphagie, faiblesse, paralysie respiratoire |
| Gaz inervant : Inhibiteurs de la cholinestérase (sarin) | Sécrétions respiratoires importantes, sueurs, bronchospasme, micropupilles, bradycardie/ tachycardie, collapsus cardio-respiratoire |

FHV = fièvres hémorragiques virales

La peste

- **Zoonose** dont la chaîne épidémiologique fait intervenir:
 - Rongeurs sauvages
 - Rongeurs anthropophiles
 - Leurs puces
- **Maladie épidémique** ↪ forte mortalité depuis 2 millénaires
- **Fléau historique:** Depuis le début de l'ère chrétienne
 - ↪ Trois grandes pandémies

La première pandémie: 541-767 après J.-C Peste de Justinien



Aurait diffusé à partir de l'Égypte tout autour du bassin méditerranéen
↳ Tuant des dizaines de millions d'êtres humains

Seconde pandémie

Peste médiévale / Peste noire

Fin de la première moitié du XIV^{ème} siècle → 1^{ère} moitié du XIX^{ème} siècle

- Des bords de la mer Noire
⇒ envahi toute l'Europe en 5 ans
- Première vague de cette pandémie
⇒ emporté près de 25 millions d'êtres humains (1/4 population européenne)
- Ré-émergeait à intervalles plus ou moins réguliers
- Régressé à la fin du Moyen-âge



Troisième pandémie

Fin du XIX^{ème} siècle en Chine

- En raison du développement des moyens de communication (bateaux à vapeur) → se répandit dans le **monde entier**, atteignant pour la première fois les continents jusqu'alors épargnés: l'Amérique et l'Australie

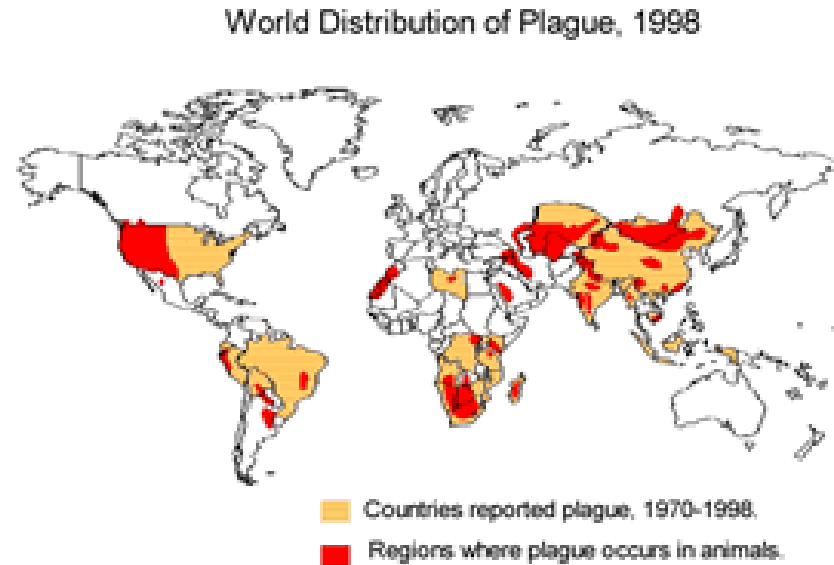


Situation actuelle de la peste dans le monde

- **Début du XX^{ème} siècle ⇒ Déclin de la peste**
- **Persistance de foyers endémiques**
- **Ré-émergence récente de la peste**

Persistance de foyers endémiques

Peste n'a pas été éradiquée et ne le sera probablement jamais
Réservoir s'étend sur de vastes territoires



- Près de 44 000 cas humains ont été déclarés à l'OMS par 26 pays au cours des vingt dernières années. Ce nombre est probablement fortement **sous-estimé**
- Les pays déclarant le plus de cas humains:
 - en **Afrique subsaharienne** (Madagascar, Congo et Tanzanie)
 - Viennent ensuite **l'Asie du Sud-est** (Vietnam, Chine), **l'Asie centrale** (Mongolie, Kazakhstan, Inde), et les **deux sous-continent américains**

- Recrudescence significative des cas humains observée depuis une quinzaine d'années a justifié son inclusion dans la liste des **maladies ré-émergentes**
- En République démocratique du Congo par exemple, trois épidémies meurtrières de peste pulmonaire entre 2005 et 2006, totalisant plus de 2 000 cas
- En Europe, aucun cas de peste n'a été signalé récemment

Ré-émergence récente de la peste

| Pays | Derniers cas | Nouvelle épidémie | Durée de silence |
|------------------------|--------------|-------------------|------------------|
| Mahajanga (Madagascar) | 1928 | 1991 | 63 ans |
| Inde | 1964 | 1994 | 30 ans |
| Mozambique | 1978 | 1994 | 16 ans |
| Zambie | 1954 | 1997 | 43 ans |
| Jordanie | ≈1915 | 1997 | >80 ans |
| Algérie | 1946 | 2003 | 57 ans |
| Lybie | 1984 | 2009 | 25 ans |

Pouvoir pathogène

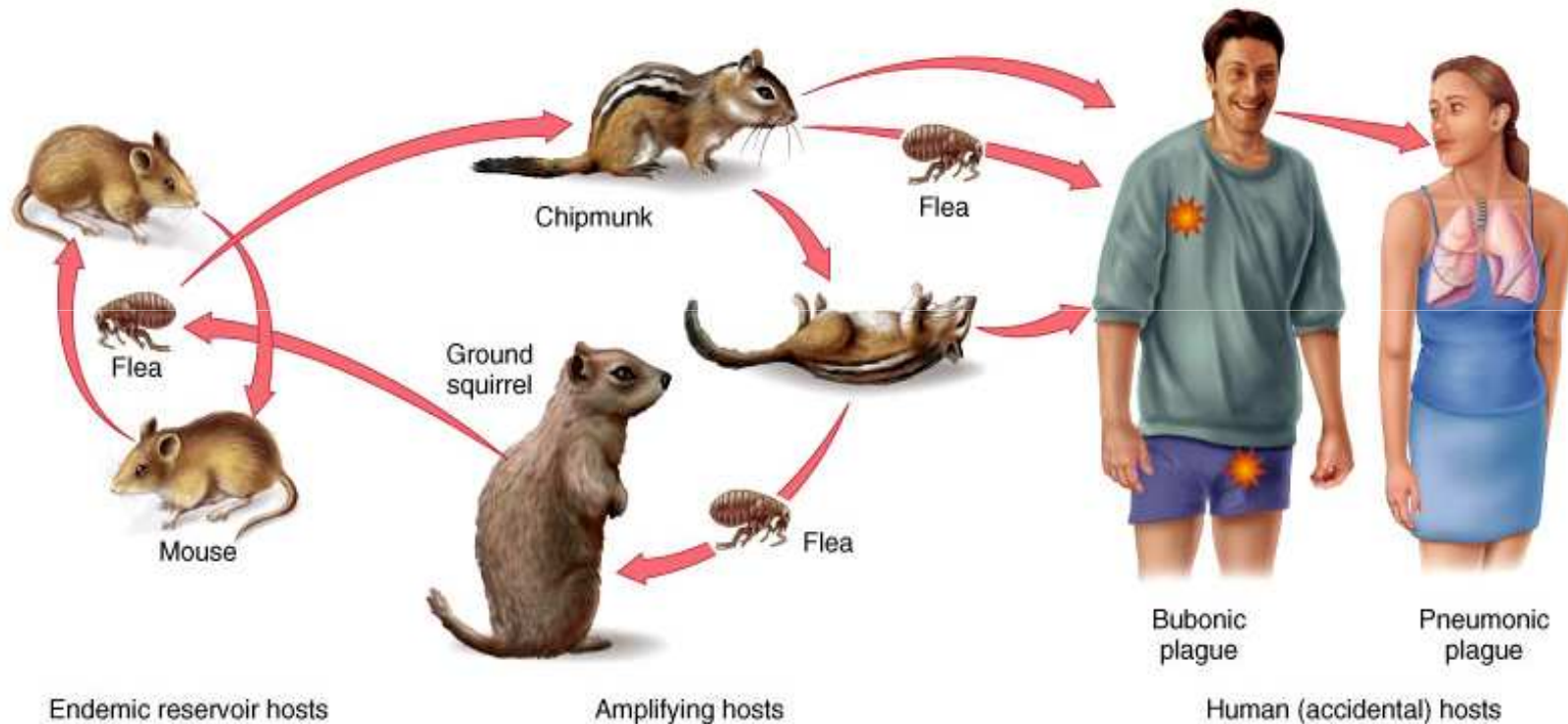
- **Maladie des rongeurs** qui est **transmissible à l'homme** par l'intermédiaire de **puces**
- **Sa symptomatologie chez l'homme**, décrite avec précision par Procope de Césarée durant l'épidémie de Constantinople en 543, **peut revêtir deux aspects majeurs**:
 - **Peste bubonique** (puce):
 - Bubon: adénopathie inguinale++ ou axillaire
 - Bactériémie → foyer pulmonaire
 - Syndrome infectieux sévère
 - **Peste pulmonaire** (la plus grave)
 - Transmission inter-humaine
 - Rapidement mortelle



Épidémiologie

- ***Y. pestis*** : habituellement transmis de rongeur à rongeur ou de rongeur à l'homme par piquûre de **puce**
- Schématiquement, l'épidémiologie de la peste peut se décomposer en **trois cycles** :

1/ Peste sauvage sévit chez les **rongeurs sauvages** (écureuils, marmottes, mérions, gerbilles, chiens de prairies ...) et sa transmission se fait lors de rencontres entre rongeurs, par échanges de puces; l'**atteinte de l'homme** est **exceptionnelle**



2/ Peste rurale passe des rongeurs sauvages aux rats de village

3/ Peste urbaine, importée en ville à partir d'un foyer rural, se propage rapidement de rat à rat.

*Institut Pasteur, The American Journal of Tropical Medicine and
Hygiène, juin 2009*

Une étude (République démocratique du Congo)



qu'à côté du rat, le **poulet et le chat**
peuvent être des **réservoirs potentiels**
dans cette région récemment victime d'une
nouvelle épidémie

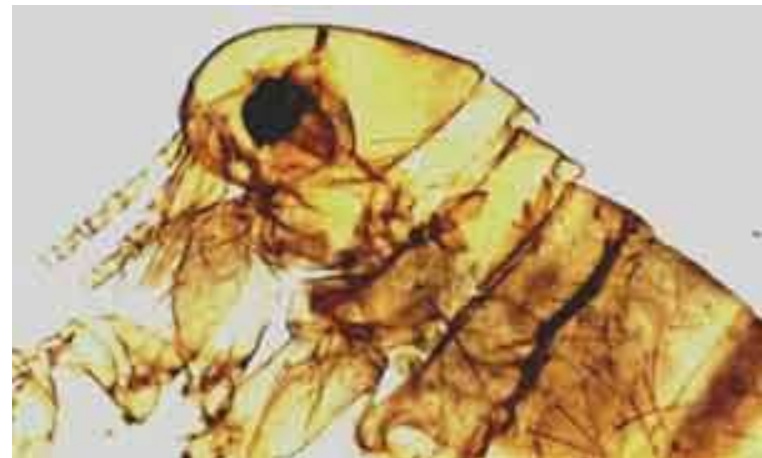
Insectes vecteurs: Puces

Chaque espèce d'insecte parasite a un hôte défini:

Xenopsylla cheopis = **puce spécifique du rat**, mais peut accidentellement piquer l'homme

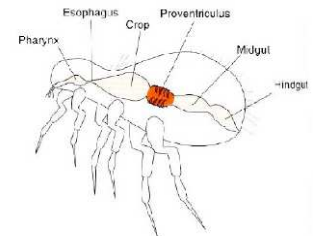


La maladie peut ensuite être transmise d'homme à homme par la **puce de l'homme**, *Pulex irritans*: un vecteur moins efficace que la puce du rat pour transmettre la maladie à l'homme





- **Après piquêre d'un hôte** présentant une septicémie, la puce héberge le bacille de la peste dans son tube digestif
- Les bactéries se multiplient dans le proventricule (dilatation située entre l'oesophage et l'estomac)
- Formation d'un **biofilm +++**:
 - Fixation de *Y pestis*: œsophage, proventricule et estomac de la puce
 - Echappement à la phagocytose → maintient d'une infection chronique
- Obstruction proventricule → **blocage** (le plus souvent partiel): affame la puce et l'oblige à piquer son hôte maintes fois



- **Lors d'une nouvelle piqûre :**
la puce aspire du sang → proventricule (au contact du bouchon bactérien) → empêche le passage du sang dans l'estomac → la puce régurgite dans la plaie le sang souillé → inoculant le bacille de la peste à son hôte
- De plus en plus affamée, **la puce passe de rongeur à rongeur, piquant sans pour autant se nourrir**, jusqu'à ce qu'elle meurt d'inanition
- Les rongeurs peuvent aussi contracter la peste en mangeant le cadavre de leurs congénères infectés (dose bactérienne infectante par voie orale est 1000 à 10 000 x plus élevée que par voie sous-cutanée)
- Les bactéries pourraient être aussi inhalées par les rongeurs lors du fouissage de la terre

- Rongeurs résistants maintiennent la peste à l'état endémique dans la nature
- Par ailleurs, ***Y. pestis* peut persister pendant plusieurs années dans le sol**, dans des conditions climatiques hostiles, sans perdre pour autant sa virulence
- ↪ **Recontaminer** les rongeurs sauvages fouisseurs, des années après la disparition de la maladie chez les animaux décimés



Terrier

- Impossible d'éradiquer *Y. pestis* de l'environnement
- Seule une **surveillance rigoureuse** du réservoir animal (mesure de lutte antipesteuse impérative en **zone endémique**)

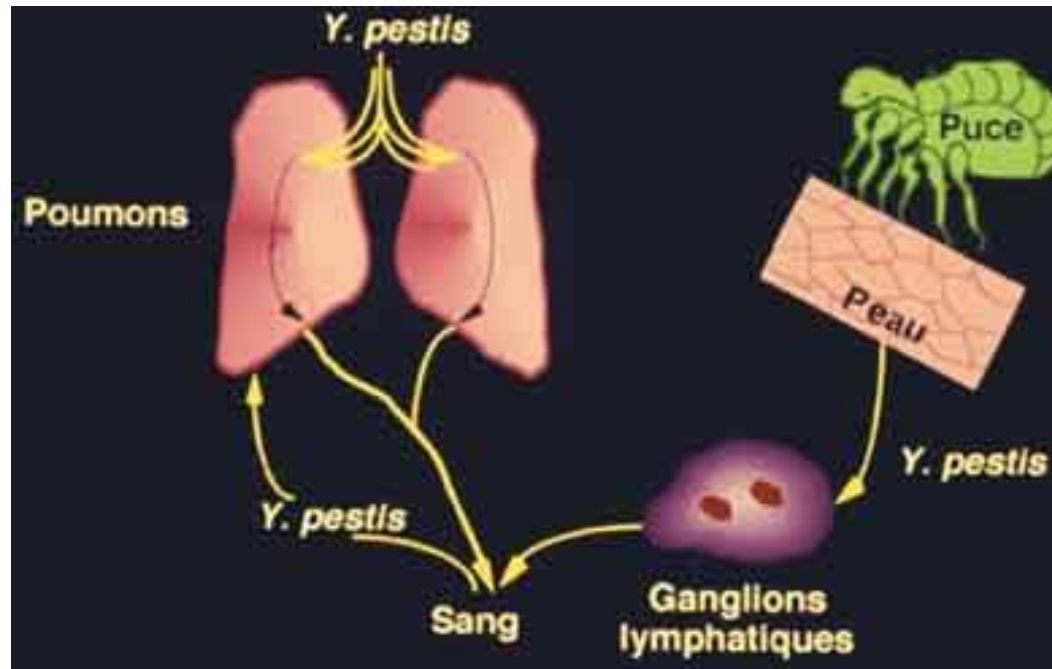


Interdiction routière

Physiopathologie et facteurs de virulence

4- Si l'hôte survit → **foyers infectieux** dans la rate, le foie, les reins, le cerveau et les **poumons** → **Peste pulmonaire** → lésions de pneumonie nécrosante et hémorragique → dissémination sanguine précoce

3- Dissémination sanguine précoce
+ état de **choc** et CIVD



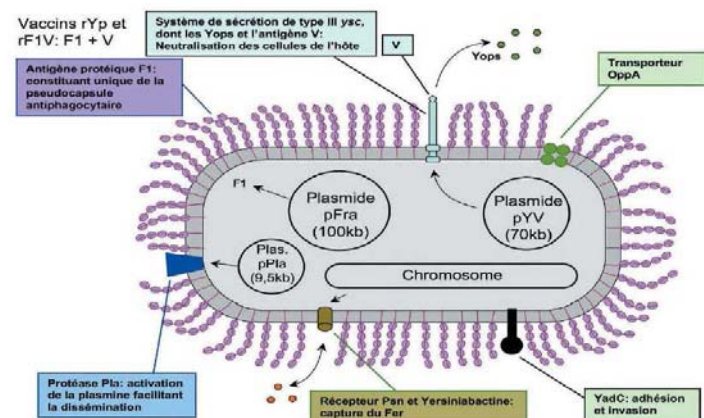
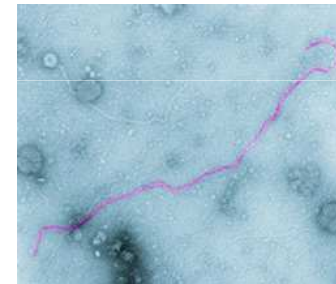
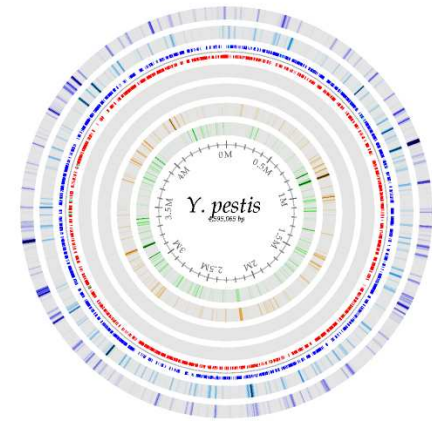
1- Inoculation voie transcutanée

- Rongeurs sensibles (souris, cobaye) et homme: 1-10 bactéries
- Rongeurs résistants (rat): 10^6 bactéries

2- multiplication bactérienne au point d'inoculation → **nécrose** tissulaire → **bubon** (gg lymphatiques hypertrophiés et nécrosés)
Sidération des défenses immunitaires → Faible intensité RI +++

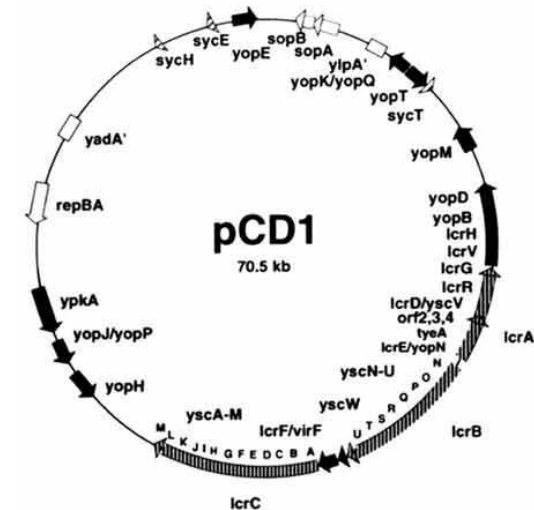
Mécanismes moléculaires de la peste

- *Y. pestis* apparue il y a 20 000 ans à partir de *Y. pseudotuberculosis* (75% de gènes orthologues présentant plus de 97% d'identité)
- Génome entièrement séquencé → 4,6 Mb comportant:
 - **Gènes chromosomiques:**
 - des pseudogènes traçant un mode de vie entéro-pathogène
 - des évidences de recombinaison intragénomiques, de transfert latéral de facteurs de virulence
 - de nombreuses séquences d'insertion (IS100, IS285, IS1541)
 - des gènes d'origine phagique: "Ypf " (*Y. pestis* filamentous phage) dont l'absence → perte d'une partie de sa pathogénicité
 - des îlots de haute pathogénicité
- **3 plasmides +++**

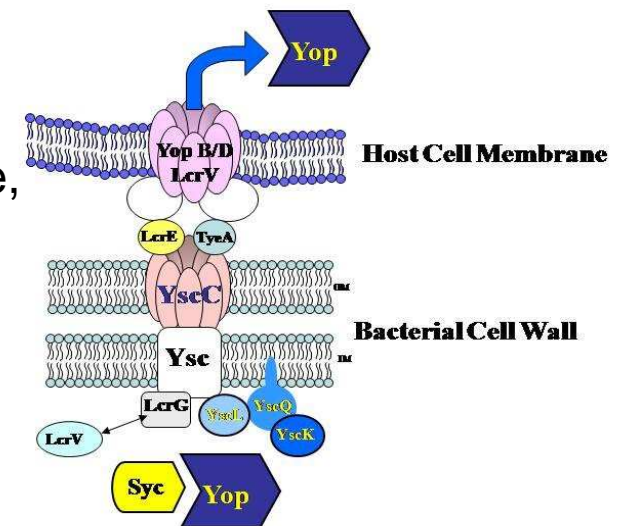


Plasmide pCD (Calcium-Dependency)

- Comporte 35 gènes contigus codant un appareillage de sécrétion-translocation et son système de régulation, flanqué de gènes spécifiant des protéines effectrices appelées **Yop** (Yersinia outer proteins) ainsi que leurs chaperons



- Injectées dans le cytoplasme des cellules de l'hôte, les Yop permettent aux bactéries de:
 - rester extracellulaires
 - échapper à la phagocytose



Graphical representation of the Type III secretion mechanism of *Yersinia pestis*

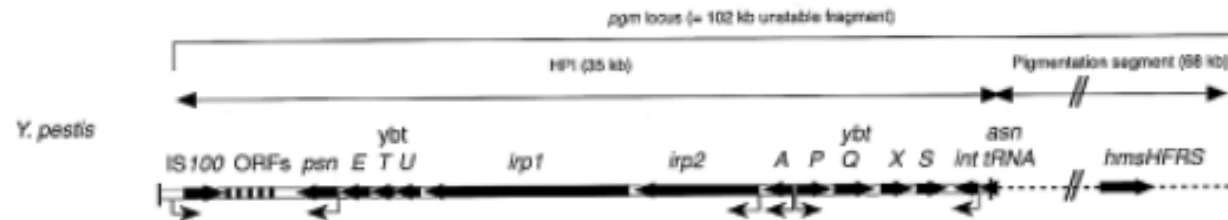
Plasmide pPCP

- Présent en près d'une centaine de copies par cellule
- Code
 - une coagulase → formation de microthrombi
 - **Fibrinolysine: gène *pla* (*plasminogen activator*)**
 - Dissémination des bactéries à partir du site d'inoculation
 - Perte de ce plasmide ou l'inactivation de *pla* → Forte baisse de la virulence des bactéries inoculées à l'animal de laboratoire par voie sous-cutanée, alors que la virulence reste identique par voie veineuse: les puces ne s'infectant par *Y. pestis* que lors des repas sanguins, pPCP contribue à la transmission inter-individuelle de la peste

Plasmide pMT (Murine Toxin)

- Code une **capsule** de nature glycoprotéique (Fraction 1 ou antigène F1)
- **Constituant de surface** permet aux microorganismes de résister à la phagocytose en inhibant leur opsonisation
- Par ailleurs, pMT porte un gène (*ymt*) spécifiant une **phospholipase** (anciennement appelée la toxine murine) qui permet au bacille de la peste de coloniser **le tube digestif de la puce**

Îlot de haute pathogénicité/ IHP



- Grand fragment d'ADN chromosomique: 35 à 45 Kb
- CG% différent du reste du chromosome → origine différente (transfert horizontal)
- Nombreux gènes de virulence → **système de yersinobactine** → captation de fer
- Nombreuses SI et gènes d'origine phagique
- Gènes codant le système Hms → fixation hème → intervient dans la formation de biofilm → blocage chez puce (non indispensable chez les mammifères)

Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de peste doit être évoqué en cas:

- D'adénopathie tendue et douloureuse chez un patient fébrile, prostré, qui a été exposé à des rongeurs
- Pour formes septicémiques et pulmonaires, qui ne présentent aucune particularité clinique les différenciant d'une autre étiologie, la notion **d'exposition à des rongeurs ou à un chat** est capitale
- **Diagnostic rapide** = élément clef

Prélèvements

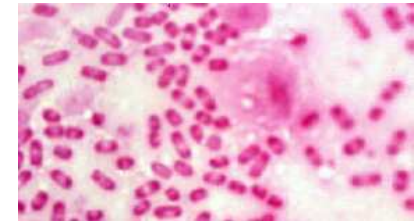
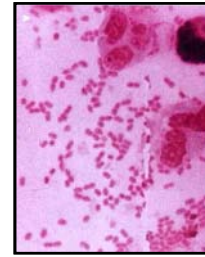
Le diagnostic de la maladie chez l'homme ne peut être affirmé que par l'isolement de *Y. pestis* à partir du produit de **ponction ganglionnaire** (peste bubonique), d'**expectorations** (peste pulmonaire) ou du **sang** (les deux formes de peste).

NB: Bien **préciser la recherche** de *Y pestis* sur le bon de laboratoire

- **ATTENTION: Agent de la classe biologique 3** → manipulé en laboratoire de sécurité P3.
- **AGENT POSSIBLE DE BIOTERRORISME**



Examen microscopique direct et culture



- Coloration de Gram
→ leucocytes altérés et des BGN à coloration bipolaire
- Culture sur:
 - Gélose au sang 5%,
 - Bouillon cœur cerveau
 - Ainsi que sur milieux sélectifs Mac Conckey et Cefsulodine-Irgasan-Novobiocine CIN



Incubés à 28°C pendant 72 heures



BCC limpide
+ dépôts floconneux

Identification

- **Phénotypique:** Pb diagnostic différentiel avec *Y pseudotuberculosis*
- **Moléculaire:** étude de la séquence *rpoB* (spécifique de l'une des sous unités de l'ARN polymérase) car les 2 espèces ont la même séquence ARNr 16S

Typage

Nécessaire, en raison de son potentiel épidémique et possibilité de son utilisation comme arme de bioterrorisme

- **Biotypage:** aptitude à fermenter le glycérol et à réduire les nitrates en nitrites → 3 biovars:
 - Antiqua (G+N+): Afrique et Asie Centrale
 - Medievalis (G+N-): pourtour de la mer Caspienne
 - Orientalis (G-N-): Asie, Afrique et Amérique, plus communément isolé → génotypage +++
- **Génotypage:** Etude du polymorphisme et de la distribution des IS (100, 285 et 1541) = meilleure approche

Autres méthodes de diagnostic direct

- **Test de Dg rapide +++:**

Immuno-chromatographie sur bandelette développée par l'Institut Pasteur à Paris et l'Institut Pasteur de Madagascar

(S. Chanteau et al., *Lancet*, 2003)

- Détecte l'Ag F1 de *Y. pestis* en 15'
- VPP = 90,6 ; VPN = 86,7



Depuis 2006 → OMS:

Dans une région d'endémie, lorsque aucun autre test de confirmation ne peut être pratiqué, la détection de l'antigène F1 par ce test rapide ↪ Confirmer un cas de peste

- **PCR multiplex** (*pla*, *ARNr16S*, *ymt* et *caf*)

- **PCR en temps réel** (détectant les mêmes gènes)

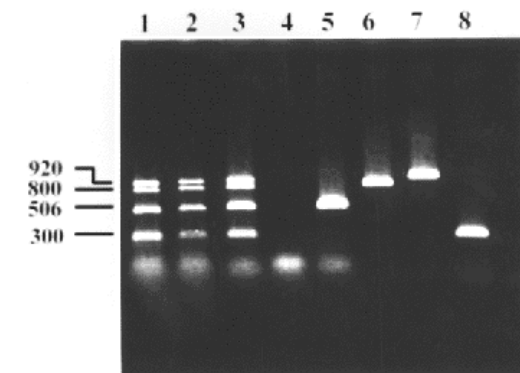
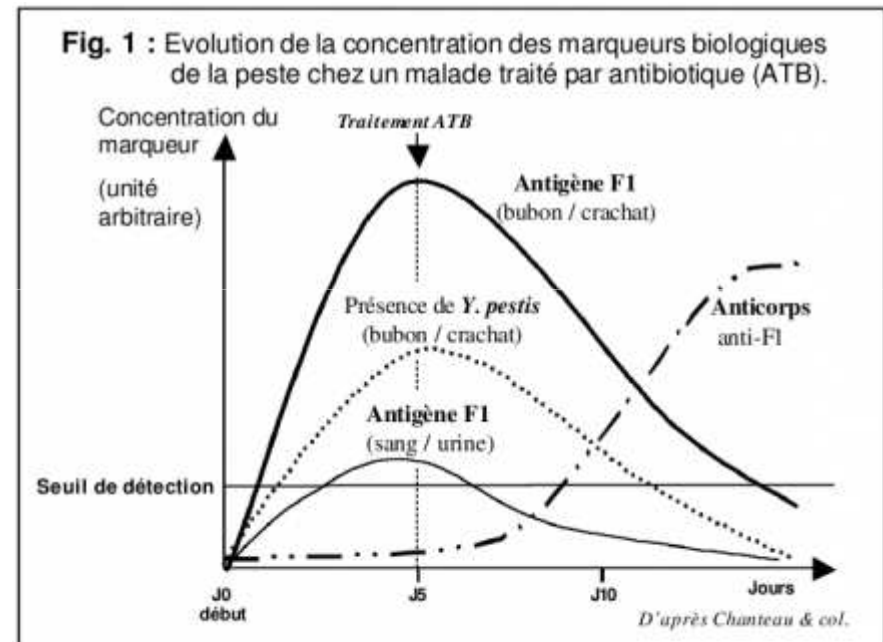


Fig. 2 - Products of amplification of the multiplex-PCR assay. Lines, 1: Processed blood culture; 2: Culture of P. CE 882 strain; 3: Purified DNA from P. CE 882 strain; 4: negative control (without DNA); 5-8: Amplifications from the processed blood culture with individual primers directed at the genes *cafI*, *icrV*, *pla* and *iyp2* respectively.

Diagnostic indirect

- **Diagnostic sérologique:** par technique ELISA pour la détection d'anticorps anti-F1
 - Cependant, très faible VPP pour les patients hors zone d'endémie
 - Un résultat positif doit être confirmé par Western-blot



Traitement

- Antibiotique recommandé = streptomycine [3g/24 h en 2 injections I.M. ou en perfusion I.V. pendant les 3 premiers jours, puis 2 g/24 h les 7 jours]
avec hospitalisation et isolement strict des malades
- Alternative : doxycycline ou les fluoroquinolones
- Le traitement doit être précoce +++:
 - si délai < 72 h en cas de peste bubonique → guérison 100% des cas
 - si délai < 24 h en cas de peste pulmonaire → guérison 90% des cas

Problème émergence de résistances

- En 1997, à l'Institut Pasteur de Madagascar:
- Sur 447 souches testées :
 - 17 résistances intermédiaires à la tétracycline
 - 19 résistances intermédiaire au chloramphénicol
 - 2 multirésistantes à plusieurs antibiotiques !!!

TABLE 2. MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATIONS OF VARIOUS ANTIBIOTICS AGAINST THE BACTERIAL STRAINS STUDIED.

| STRAIN | MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION | | | | | | | | |
|------------------|----------------------------------|-----------------|-----------|--------------|---------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| | AMPICILLIN | CHLORAMPHENICOL | EANAMYCIN | STREPTOMYCIN | SPECTINOMYCIN | TETRACYCLINE | MINOCYCLINE | SULFONAMIDE | TRIMETHOPRIM |
| | milligrams per liter | | | | | | | | |
| <i>Y. pestis</i> | | | | | | | | | |
| 17/95 | 2048 | 128 | 2048 | >2048 | 2048 | 1024 | 512 | 1024 | 1 |
| 17/95-1 | 1 | 4 | 1 | 4 | 4 | 8 | 4 | 8 | 0.5 |
| 6/69cN | 1 | 4 | 1 | 4 | 4 | 8 | 4 | 8 | 1 |
| 6/69cNR | 2048 | 256 | 2048 | >2048 | 2048 | 1024 | 512 | 1024 | 1 |
| <i>E. coli</i> | | | | | | | | | |
| K802N | 8 | 8 | 1 | 4 | 4 | 8 | 4 | 8 | 1 |
| BM4354 | 1024 | 1024 | 1024 | 256 | 256 | 256 | 32 | 2048 | 1 |

Pb: R portée par plasmide transférable par conjugaison

Prévention

- Déclaration obligatoire et immédiate d'un cas suspect et sa confirmation biologique
- Chimio prophylaxie des sujets contacts (obligatoire en cas de peste pulmonaire)
- Lutte anti-réservoir et la lutte anti-vectorielle combinée

Vaccination

- Largement utilisée autrefois (1932) contre la peste (souche EV de Girard et Robic): clone de virulence atténuée par perte de IHP obtenu par repiquages séquentiels
→ abandonnée depuis 1999
- De nouveaux vaccins sont à l'étude:
 - Vaccins acellulaires constitués de protéines recombinantes purifiées:
 - Les antigènes ciblés: **F1** et **LcrV**
 - L'efficacité de ces vaccins a été validée sur des primates et leur évaluation chez l'homme (phase II)
 - D'autres approches vaccinales utilisant des souches vivantes avirulentes sont en cours d'étude
 - par délétion de gènes tels que *dam*, *yopH* ou *pcm*
 - D'autres stratégies comme l'administration par voie orale d'une souche de *Y. pseudotuberculosis* de virulence atténuée ou d'une *Salmonella* avirulente exprimant les antigènes F1 et V

Conclusion

- Identification récente de souches multirésistantes
 - Utilisation potentielle de *Y. pestis* comme agent de guerre biologique
- ↳ Peste = Menace persistante de santé humaine
- ↳ La vigilance est de rigueur et la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques ou vaccinales devrait être une priorité

MERCI